

ANTÔNIO LUIZ FRANCALACCI FRANÇA

**ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DAS LESÕES CAUSADAS POR DUAS E
QUATRO PASSADAS DE *LASER DE ERBIUM: YAG* COM 0% DE
SOBREPOSIÇÃO DE *SPOTS*, EM DORSO DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná – Nível de Mestrado, como requisito parcial para a obtenção do grau acadêmico de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Nicolau Gregori Czezczko

Co-orientadora : Prof. Lúcia de Noronha

Coordenador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

**CURITIBA
1999**

ANTÔNIO LUIZ FRANCALACCI FRANÇA

**ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DAS LESÕES CAUSADAS POR DUAS E
QUATRO PASSADAS DE *LASER DE ERBIUM: YAG* COM 0% DE
SOBREPOSIÇÃO DE *SPOTS*, EM DORSO DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná – Nível de Mestrado, como requisito parcial para a obtenção do grau acadêmico de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Nicolau Gregori Czeckzo

Co-orientadora : Prof. Lúcia de Noronha

Coordenador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

**CURITIBA
1999**

ANTÔNIO LUIZ FRANCALACCI FRANÇA

**ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DAS LESÕES CAUSADAS POR DUAS E
QUATRO PASSADAS DE *LASER DE ERBIUM: YAG* COM 0% DE
SOBREPOSIÇÃO DE *SPOTS*, EM DORSO DE RATOS**

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau acadêmico de mestre no Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador: Prof. Dr. Nicolau Gregori Czezko

Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias

Prof. Dr. Constantino Miguel Neto

Prof. Dr. Antonio Rocha Gonçalves

Curitiba, 20 de abril de 2000

Aquele que não sabe o que procura,
não reconhece quando encontra.

Albert Einstein

Aos meus pais

Aristógiton, a quem sempre me incentivou a buscar nos livros as respostas para as minhas inquietações.

Nira, a quem sempre me ensinou a buscar as respostas através do diálogo e da reflexão

e

Priscila, minha adorada filha, incentivadora e luz que me dá otimismo e esperança no futuro.

AGRADECIMENTOS

“O que a gentileza livremente oferece,
agradecimentos não podem pagá-la”.

John Masefield

Ao **Prof. Dr. NICOLAU GREGORI CZECHKO**, competente orientador, por sua orientação segura, fraterna e constante em todas as etapas deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. ANTONIO L. CAMPOS**, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, minha gratidão por seus valiosos e experientes comentários.

À **Prof. LÚCIA DE NORONHA**, co-orientadora, pelas incontáveis e pacientes revisões das lâminas de histologia, por sua amizade, incentivo e agilidade em tudo que lhe foi solicitado.

Ao **Prof. Dr. OSVALDO MALAFAIA**, Professor Titular do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, meu reconhecimento e gratidão pela acolhida.

Ao **Prof. Dr. LUIZ FERNANDO BLEGGI TORRES**, Professor Titular do Departamento de Patologia Médica da Universidade Federal do Paraná, meu agradecimento por acreditar e apoiar este trabalho.

Ao acadêmico **FÁBIO CÉZAR DAL-LIN** pela ajuda na pesquisa bibliográfica e revisão constante da dissertação.

Ao **MAURO, GUSTAVO E ELAINE** da MTI pelo apoio técnico.

A **NALMIN CANALLI** pela ajuda e apoio constante.

A todos vocês a minha gratidão, pois somente com a união de todos foi possível a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	LISTA DE GRÁFICOS.....	x
	LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	xiii
	RESUMO.....	xiv
	ABSTRACT.....	xv
1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1	HISTÓRICO	3
2.2	PRINCÍPIOS FÍSICOS DO <i>LASER</i>	6
2.2.1	Energia luminosa.....	6
2.2.2	Interação <i>laser</i> /tecido	8
2.2.3	Parâmetros para funcionamento do sistema.....	14
2.2.4	Limitações às técnicas de resurfacing a <i>laser</i>	17
2.3	RELATOS DE USO CLÍNICO	18
2.4	RELATOS DE USO EXPERIMENTAL	29
2.4.1	Em porco/coelho.....	29
2.4.2	Em ratos	33
3	MATERIAL E MÉTODO.....	35
3.1	AMOSTRA	35
3.2	EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	36
3.2.1	O aparelho de <i>laser</i>	36
3.2.2	Instrumental.....	37
3.2.2.1	C.P.G. (Computerized Pattern Generator).....	37
3.2.2.2	O aspirador	38

4.3.2	Extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les)	79
4.3.3	Profundidade do dano de ablação (d.ablç.).....	80
4.3.4	Dano térmico residual (d.t.r.).....	81
5	DISCUSSÃO	83
5.1	DO ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO.....	83
5.2	DO EQUIPAMENTO UTILIZADO.....	84
5.2.1	Do aparelho de <i>laser</i>	84
5.2.2	Do instrumental	84
5.3	DAS MEDIDAS DE SEGURANÇA	86
5.4	DO PRÉ-OPERATÓRIO E ANESTESIA	87
5.5	DO ATO OPERATÓRIO	87
5.5.1	Do procedimento cirúrgico	87
5.5.2	Da ferida experimental	88
5.6	DO PREPARO DO MATERIAL, ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E MÉTODO MORFOMÉTRICO	88
5.6.1	Do preparo do material para o estudo histológico	88
5.6.2	Do estudo histológico	90
5.6.3	Do método morfométrico.....	90
5.7	DA AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA	91
5.8	DOS ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA PELE CONTROLE E DA LESADA COM <i>LASER</i> ERBIUM (DUAS E QUATRO PASSADAS)	92
5.8.1	Dos aspectos histológicos da pele controle	92
5.8.2	Dos aspectos histopatológicos da pele lesada com <i>laser</i> erbium, duas passadas	94
5.8.3	Dos aspectos histopatológicos da pele lesada com <i>laser</i> erbium, quatro passadas.....	95

5.9	DOS RESULTADOS MORFOMÉTRICOS E RESULTADOS ESTATÍSTICOS	97
5.9.1	Da extensão das áreas lesadas e não lesadas pelo <i>laser</i> erbium	97
5.9.2	Da profundidade do dano de ablação	98
5.9.3	Do dano térmico residual	99
5.10	DO USO DO <i>LASER</i> EM SERES HUMANOS	99
6	CONCLUSÕES	101
	ANEXOS	102
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115

LISTA DE GRÁFICOS

1	VALORES DE EXTENSÃO DAS ÁREAS LESADAS PELO <i>LASER</i> ERBIUM:YAG.....	62
2	COMPARAÇÃO DOS VALORES MÉDIOS DA EXTENSÃO DAS ÁREAS LESADAS PELO <i>LASER</i> DE ERBIUM:YAG COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS.....	63
3	VALORES DA EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADA NAS ÁREAS DE APLICAÇÃO DE <i>LASER</i> ERBIUM 2 (2P) E 4 PASSADAS (4P).....	64
4	COMPARAÇÃO DOS VALORES MÉDIOS DA EXTENSÃO DAS ÁREAS NÃO LESADAS PELO <i>LASER</i> DE ERBIUM:YAG COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS.....	65
5	VALORES DA ESPESSURA MÉDIA, MÁXIMA, MÍNIMA E DESVIO PADRÃO DA PELE CONTROLE © DOS ANIMAIS A1, A2 E A3.....	66
6	VALORES DA ESPESSURA DA PELE LESADA PELO <i>LASER</i> DE ERBIUM:YAG COM 2(2P) E 4 (4P) PASSADAS NOS TRÊS ANIMAIS A1, A2, E A3 E SEUS VALORES MÉDIO, MÁXIMO, MÍNIMO E DESVIO PADRÃO.....	67
7	VALORES MÉDIOS DA ESPESSURA DA PELE LESADA PELO <i>LASER</i> DE ERBIUM:YAG COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS, NOS ANIMAIS A1, A2 E A3.....	67
8	VALORES MÉDIOS DA ESPESSURA DA PELE LESADA PELO <i>LASER</i> DE ERBIUM:YAG COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS, NOS ANIMAIS E DAS ÁREAS CONTROLE NOS ANIMAIS A1, A2 E A3.....	68
9	VALORES MÉDIOS, MÁXIMOS, MÍNIMOS E DESVIO PADRÃO DO DANO TÉRMICO RESIDUAL NAS ÁREAS LESADAS PELO <i>LASER</i> DE ERBIUM:YAG COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS NOS ANIMAIS A1, A2 E A3.....	69
10	VALORES MÉDIOS DO DANO TÉRMICO RESIDUAL NAS ÁREAS LESADAS PELO <i>LASER</i> DE ERBIUM:YAG COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS NOS ANIMAIS A1, A2 E A3.....	70

11	VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.) DO ANIMAL A1 PARA DUAS PASSADAS.....	71
12	VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.) DO ANIMAL A2 PARA DUAS PASSADAS.....	72
13	VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.) DO ANIMAL A3 PARA DUAS PASSADAS.....	73
14	VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.) DO ANIMAL A1 PARA QUATRO PASSADAS.....	75
15	VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.) DO ANIMAL A2 PARA QUATRO PASSADAS.....	76

16	VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.) DO ANIMAL A3 PARA QUATRO PASSADAS.....	77
----	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1	PAINEL DO APARELHO DO <i>LASER</i> ERBIUM:YAG.....	37
2	C.P.G.(<i>COMPUTERIZED PATTERN GENERATOR</i>).....	38
3	ASPECTO MACROSCÓPICO DOS RETÂNGULOS.....	41
4	ASPECTOS MICROSCÓPICOS DA PELE CONTROLE	49
5	ASPECTOS MICROSCÓPICOS DA EXTENSÃO DA ÁREA LESADA E DANO TÉRMICO RESIDUAL	50
6	CORTE HISTOLÓGICO DA PELE CONTROLE (C).....	53
7	CORTE HISTOLÓGICO DA PELE CONTROLE	54
8	CORTE HISTOLÓGICO DA PELE CONTROLE (C)	55
9	ÁREAS DE PELE LESADA E NÃO LESADA – 2 PASSADAS..	56
10	ÁREAS DE PELE LESADA E NÃO LESADA – 2 PASSADAS..	57
11	ÁREAS DE PELE LESADA E NÃO LESADA –2 PASSADAS..	58
12	ÁREA DE PELE LESADA E DANO TÉRMICO RESIDUAL, FIBRAS – 4 PASSADAS.....	59
13	ÁREA DE PELE LESADA, DANO TÉRMICO RESIDUAL, FIBRAS ELÁSTICAS – 4 PASSADAS.....	60
14	ÁREAS DE PELE NÃO LESADAS, LESADAS E DANO TÉRMICO RESIDUAL.....	61

RESUMO

Nos últimos anos, uma série de *lasers* de CO₂ tem sido apresentada ao meio médico com a finalidade de rejuvenescer a face através do *resurfacing*. Embora cada sistema de *laser* tenha o mesmo princípio básico da fototermólise seletiva, há significativa diferença entre os *lasers*. Estas diferenças podem resultar em variações no efeito tecidual clínico e histológico. Mais recentemente e com a mesma finalidade foi lançado o *laser* de *Erbium:YAG* que tem como característica principal ter o comprimento de onda com 10 vezes mais afinidade pela água que o *laser* de CO₂. O propósito deste estudo experimental foi comparar as alterações histopatológicas e morfométricas encontradas em 2 e 4 passadas com *laser* de *Erbium:YAG* com *scanner* e sobreposição dos *spots* de 0%. A homogeneidade da ablação em extensão e profundidade e o dano térmico residual foram avaliados e as medidas morfométricas foram comparadas entre 2 e 4 passadas. A validade de se utilizar 0% de sobreposição dos *spots* também foi estudada. Foram utilizados a pele do dorso de 3 ratos in vivo e o sistema de *laser* de *Erbium:YAG* de nome comercial DERMA 20 ®. As lesões foram feitas com 2 e 4 passadas e selecionada área controle em cada rato. A seguir foram ressecadas em prazo máximo de 3 horas e encaminhadas à histopatologia para as avaliações propostas. Como resultados com 4 passadas houve mais homogeneidade da extensão da ablação do que em 2 passadas. O dano térmico residual foi semelhante em ambos, com discreta predominância em 4 passadas. Conclui-se que a extensão e homogeneidade de ablação foi maior com 4 passadas. O método não foi conclusivo para avaliar a profundidade das lesões. O dano térmico residual não foi o dobro com 4 passadas e que a utilização de 0% de sobreposição dos *spots* não garante homogeneidade de ablação.

ABSTRACT

In recent years, a series of CO₂ *lasers* has been presented to the medical area with the purpose of rejuvenating the face by means of resurfacing. Though each *laser* systems has the same base principle, that is, the selective photothermolysis, there is a significant difference among the *lasers*. Such differences could result in variations in the clinical and histological effects of the tissue. It is only quite recently, and with the same purpose, that the Erbium:YAG *laser* was introduced. Its main characteristic is of having the wavelength with ten times more affinity for water than the CO₂ *laser*. The purpose of this experimental study was to compare the histopathologic and morphometric alterations found in 2 and 4 Erbium:YAG *laser* passes with a scanner and with 0% overlap of spots. It was evaluated the homogeneity of the ablation in length and depth as well as the residual thermic injury. The morphometric measures were compared. The morphometric measures were compared between 2 and 4 passes. It was evaluated the homogeneity of the ablation in length and depth as well as the residual thermic injury. The morphometric measures were compared between 2 and 4 passes. It was also taken into account the validity of using 0% overlap of spots. It was used the dorsal skin of 3 living mice and the Erbium:YAG system whose trade mark is DERMA 20. The lesions were made with 2 and 4 passes and it was selected a control area in each mouse. Finally, in the maximum period of three hours, they were resected and sent to histopathology for the evaluations proposed. As a result there was more homogeneity in the length of the ablation with 4 passes than with 2 passes. The residual thermic injury was similar in both, though there was a discreet predominance with 4 passes. The conclusions of the experiment indicated that the length and homogeneity of the ablation were larger with 4 passes. The method was not conclusive in relation to the evaluation of the depth of lesions, the residual thermic injury was not doubled with 4 passes, and the use of 0% overlap of spots does not guarantee homogeneity in ablation.

1 INTRODUÇÃO

Por centenas de anos a humanidade tem tentado retardar os efeitos nocivos do envelhecimento. As mudanças na aparência da pele não representam somente efeitos intrínsecos do envelhecimento cronológico, mas também envelhecimento crônico causado pela exposição aos raios solares, bem como decorrentes de outros danos ambientais.

Duas proteínas são responsáveis pelas características de elasticidade e rigidez da pele saudável, o colágeno e a elastina. Com a idade e os danos causados pelos raios ultravioleta (UV) lesam o colágeno e as fibras elásticas, causando a perda da elasticidade dérmica. O resultado final é uma pele caída, enrugada e envelhecida.

Parâmetros clínicos comuns do envelhecimento cronológico incluem rugas, lentigos, telangectasias, queratoses, perda da transparência, decréscimo da elasticidade e cor amarelo-pálido. CHERNOFF, W.G.; SCHOENROCK, L.D.; CRAMER, H.; WAND, J. (1995) afirmam que achados histológicos relacionados com os resultados clínicos revelam que a epiderme apresenta graus variados de hiperqueratose e atrofia das camadas intermediárias. A epiderme mostra, também, algum grau de displasia com queratinócitos atípicos, variada necrose celular, vacuolização da epiderme e número decrescente de células de Langerhans. Há, ainda, uma perda do alinhamento e da polaridade vertical das células da camada basal da epiderme e degeneração basofílica do colágeno dérmico, também conhecida como elastose solar.

As técnicas de tratamento, visando melhoria da pele danificada, envolvem desde os “*peelings*” químicos, dermoabrasão e, mais recentemente, com o desenvolvimento tecnológico, “*resurfacing*” cutâneo a *laser*. O uso de produtos químicos, da dermoabrasão e da tecnologia a *laser* são partes da busca por métodos efetivos para rejuvenescimento da aparência da pele.

PEREZ, M.I.; BANK, D.E.; SILVERS, D. (1998) afirmam que o *laser* de dióxido de carbono (CO₂), de alta energia e pulsação de curta duração se tornou o

método mais usado para *resurfacing* de pele. No entanto, este método causa prolongado tempo de recuperação, eritema persistente e margens limitadas de segurança, levando ao aparecimento de efeitos colaterais permanentes. O *laser Erbium : YAG* (Er: YAG) causa ablação com muito pouca vaporização e dissecação de tecido. Entretanto, mais passadas são necessárias para alcançar um nível de profundidade de ablação da derme, quando comparada com a do *laser CO₂*. Porém, para este nível comparável de ablação de tecido há significativamente menor dano térmico, permitindo controle mais preciso da profundidade de lesão.

Na literatura consultada, há poucos estudos experimentais com o uso do *laser Erbium:YAG*, isto dificulta a resposta a inúmeras questões histopatológicas da cicatrização por lesões causadas pelo laser. Interroga-se a profundidade da ablação, a homogeneidade da ablação em extensão e dano térmico residual relacionando a potência, número de passadas e o grau ideal de sobreposição dos *spots*. A partir dessas perguntas estruturou-se este estudo.

O objetivo deste estudo experimental foi avaliar a homogeneidade da ablação em extensão e profundidade e o dano térmico residual comparando-se as alterações histopatológicas e as medidas morfométricas encontradas em 2 e 4 passadas com laser de *Erbium: YAG* com *scanner* e sobreposição dos *spots* de 0%.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

A arte de exfoliação química e mecânica da pele, resultante da destruição de porções da epiderme e da derme, remonta aos egípcios que utilizaram sal, óleo animal e alabastro para a melhoria da textura da pele. Foram, também, utilizados enxofre, mostarda e cataplasma de calcário. Em 1903, foi utilizado o fenol para realização de “*peeling*” para amenisar cicatrizes pós-acne. Em 1941, foram revisados vários tratamentos de exfoliação, incluídos o enxofre e pastas de resorcinol, como agentes exfoliantes. Na década de 60, foram utilizadas preparações de ácido tricloroacético (TCA). Foram BAKER e GORDON, citados por CHERNOFF, W.G. (1995), que estabeleceram o moderno procedimento do “*peeling*”cosmético de fenol. Como passo final deste procedimento, optaram pela cobertura das áreas tratadas com fita adesiva. A fórmula modificada de BAKER e GORDON foi adotada por grande número de cirurgiões plásticos e dermatologistas. Mais recentemente, foram adotadas prescrições de agentes esfoliantes como por exemplo, vários ácidos alfa-hidróxidos e ácido retinóico, embora os efeitos clínicos destes produtos sejam bastante limitados, (HRUZA, G.J. e DOVER, J.S. 1996).

A história da dermoabrasão inicia-se, também, com os egípcios em 1500 a.C. Mas foi em 1905 que se introduziu o conceito de escovas rotatórias para dermoabrasão. E, em 1947, foi realizada a remoção cirúrgica de tatuagens traumáticas, utilizando lixa. Na década de 60 foram desenvolvidas escovas cirúrgicas de arame e estudados os efeitos de curativos biológicos sobre os ferimentos causados pela dermoabrasão, (CHERNOFF, W.G. 1995).

Quando a exfoliação e dermoabrasão tornaram-se técnicas estabelecidas, foram realizadas investigações combinando estas modalidades terapêuticas, através de análises histológicas dos ferimentos resultantes da dermoabrasão e do “*peeling*” por

fenol e TCA. Foram, também, examinadas espécies decorrentes de cirurgia de rugas, de pacientes em quem previamente foram realizados “*peelings*”, para estudar as mudanças histológicas a longo prazo. Além disso, foi observado, em um modelo experimental, o efeito da profundidade do “*peeling*” e subsequente cicatrização, concluindo-se que a derme reticular superficial se cura pela reorganização, enquanto a derme reticular profunda pela formação de cicatriz. Portanto, um procedimento perfeito de exfoliação produz melhoria clínica completa até o limite anatômico da derme reticular profunda, onde a resposta à cicatrização muda de reorganização para produção de cicatriz com fibroblasto excessivo e proliferação de colágeno (CHERNOFF, W.G.1995)

O conhecimento dos benefícios da exfoliação química e mecânica trouxe a consciência de suas complicações e limitações. Níveis variados de sucesso de paciente para paciente e a variabilidade inter-lesional com o mesmo paciente ressaltaram a falta de precisão no controle da profundidade e da progressão linear da exfoliação. Estas deficiências serviram como estímulo ao desenvolvimento de novas técnicas no campo da “*resurfacing*” cutânea a *laser*.

A ciência básica dos sistemas a laser foi descrita em 1916, quando Einstein propôs sua teoria de “emissão de radiação” espontânea e estimulada. Em 1955, TOWNES, C.H. e GORDON, J.P., baseados na Teoria de Einstein, demonstraram a aplicação prática dos lasers estimulando a emissão da radiação através de um espectro eletromagnético.

MAIMON, T.H.(1960) amplificou a luz criando a energia a laser pela estimulação de um cristal de rubi e deu a este fenômeno o nome de *LASER*, que é um acróstico (inglês) para *Light Amplification by Stimulation Emission of Radiation*. Nos quatro anos seguintes houve rápida proliferação de dispositivos a laser. Em 1961, foi desenvolvido o laser de *helium* neon (HeNe), o laser de neodímio: yttrium-aluminum-garnet (Nd: YAG), em 1962 o laser de Argon e, em 1964, o laser de dióxido

de carbono (CO₂) (ACHAUER, B.M. 1997).

Em 1975, foi construído o primeiro laser *Erbium: yttrium aluminum garnet* (*Er:YAG*) que emite luz em temperatura ambiente. Somente depois que se descobriu que o comprimento de onda do laser *Erbium* correspondia ao pico de absorção pela água, que suas potencialidades médicas se tornaram aparentes (VEDLIN, B.1995).

Resurfacing de pele a laser começou ser realizada em 1994 (HRUZA, G.J. 1995), com o laser de dióxido de carbono (CO₂), para remoção de cicatrizes, rugas, lesões benignas de pele e transplante de cabelo. O uso do laser CO₂ expandiu-se como ferramenta para realizar incisões em queimaduras e no debridamento de úlceras do decúbito, com vantagens como ausência de sangramento e, subsequentemente, menor edema e menos dor no pós-operatório

O conhecimento das vantagens proporcionou novamente o conhecimento das limitações: Quando utilizado para o *resurfacing*, observou-se pós-operatório difícil, doloroso, com manchas e pigmentações deixando uma vermelhidão que se prolongava de três a quatro meses, além disso, os primeiros sistemas de lasers CO₂ produziram danos térmicos de difícil controle, relacionados com os efeitos da difusão de calor em tecido adjacente, resultando em necrose térmica. Desapontando resultados clínicos, os inaceitáveis índices de cicatrizes hipertróficas colocaram sérias questões ao seu uso contínuo.

O laser *Erbium YAG*, por apresentar uma maior absorção pela água, causa menores danos térmicos à pele do paciente, atenuando os problemas de lesões térmicas, propiciando uma recuperação mais rápida. Quando comparados com *lasers* CO₂ “*pulsed*” e “*scanned*”, que produzem efeitos de coagulação tecidual, os *lasers* *Erbium YAG* são capazes de ablação verdadeira causando coagulação térmica residual significativamente menor. A radiação de 29,40 μm do *Erbium YAG* tem aproximadamente dez vezes o grau de absorção pela água quando comparada com os *lasers* CO₂, explicando, desta forma, sua habilidade em produzir verdadeira ablação

tecidual em contraposição à coagulação tecidual dos *lasers* CO₂(ADRIAN, R.M.1998).

O *laser Erbium YAG* é usado atualmente para “*resurfacing*” de pele, tratamento de rugas, manchas senis, lesões cutâneas causadas pelo sol, cicatrizes de acne, varicela ou mesmo marcas deixadas por acidentes (cicatrizes traumáticas) e imperfeições da pele, bem como para transplante de cabelo.

2.2 PRINCÍPIOS FÍSICOS DO LASER

2.2.1 Energia luminosa

Lasers (do inglês *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) são fontes de energia luminosa com características bem definidas: (A) pequeno espectro de comprimento de ondas (monocromaticidade); (B) pequena divergência dos raios (unidirecionalidade); (C) ondas em mesma fase (coerência) e (D) pulsos de duração muito curta. Estas características permitem uma alta concentração de energia luminosa (fótons) em uma pequena área e em um curto espaço de tempo (CHAMON, W. 1995).

As propriedades espectrais dos lasers dizem respeito aos comprimentos de onda emitidos por determinada fonte. Sendo assim, os lasers podem ser caracterizados por seu comprimento de onda, de modo que os de comprimento de onda menor do que 280 nm são denominados lasers de radiação ultravioleta distante e os de comprimento de onda entre 200 e 400 nm, lasers de radiação ultravioleta próxima. Os lasers de radiação visível e os que emitem radiações de comprimento de onda maiores do que 700 nm são denominados lasers de radiação infravermelha.

A emissão luminosa dos lasers inicia-se na excitação de elétrons de determinado elemento químico por uma fonte energética externa luminosa ou elétrica. Toda vez que elétrons são atingidos por fótons de determinada energia, estes absorvem

a energia e movem-se para níveis energéticos localizados em órbitas mais distantes do núcleo atômico. Esta configuração energética com elétrons excitados é instável, portanto, em um curto espaço de tempo este elétron retornará ao seu nível orbitário (e energético) original, com a liberação de energia em forma de um fóton exatamente do mesmo comprimento de onda e frequência do fóton que inicialmente o atingiu (emissão espontânea). A emissão espontânea gera fótons monocromáticos, de direção aleatória e sem coerência.

No entanto, se um fóton atinge um elétron que já se encontra excitado, este elétron retorna ao seu nível energético original com a liberação de um fóton que apresenta a mesma direção (unidirecionalidade ou colimado) e a mesma fase (coerência) do fóton que o atingiu. Desta maneira, enquanto um fóton atinge o átomo, dois fótons são liberados e iniciam uma reação em cadeia de progressão exponencial. Este fenômeno é denominado emissão estimulada e é a base da emissão do laser (CHAMON, W. 1995).

Um feixe de luz que atravessa uma substância de características específicas poderá, portanto, ser enfraquecido ou potencializado. Será enfraquecido se a maioria dos elétrons excitáveis estiver em sua órbita menos energética e absorver energia luminosa para atingir órbitas mais energéticas. O feixe luminoso será potencializado se, ao contrário, a maioria dos elétrons estiver em sua órbita de maior energia e a passagem luminosa desencadear a emissão estimulada. Para se obter determinada substância com a maior parte dos seus elétrons em uma órbita mais energética (inversão populacional) é necessário que se forneça energia ao sistema. Nos lasers de cristal sólido, esta energia é fornecida através de um clarão de luz (flash) gerado por um tubo helicoidal; nos lasers a gás esta energia é fornecida por uma descarga elétrica que passa através do meio gasoso; e nos excimer lasers, ambas as fontes de energia, além de um feixe de elétrons, podem ser utilizadas (CHAMON, W. 1995).

O componente básico do laser *Erbium : YAG*, é o *yttrium aluminum garnet*

(YAG). Um cristal incolor, oticamente isotrópico, com uma estrutura cúbica típica dos garnets. A concentração de íons Erbium no cristal YAG é de aproximadamente 50%. O laser é excitado por um clarão de luz (flash), cujo bombeamento eficiente é relativamente baixo (acima de 1%). Emite luz infravermelha, com um comprimento de onda de 2940 nm ou 2.94 μm , fortemente absorvido pela água e por substâncias orgânicas e inorgânicas. Os pulsos do laser são longos: entre 200 e 400 μs . Dentro da duração de um único pulso, ocorre um número pequeno de pontas que dura aproximadamente 1 μs cada e segue uma após a outra. Seus números e altura aumentam com a energia do clarão de luz (flash). Os lasers *Erbium: YAG* apresentam atualmente uma saída de energia acima de 1.5 J, índices de repetição acima de 20Hz e uma potência média de 20 W. A profundidade de penetração superficial combinada com a alta potência de seu pulso de luz, dá-lhe a precisão dos bisturis convencionais em incisões de tecido e a possibilidade de realizar ablação tecidual, com dano térmico secundário mínimo. O processo de cura é rápido e o sangramento mínimo (VEDLIN,B. 1995).

2.2.2 Interação laser/tecido

A interação do laser com os tecidos se dá em última instância pelos fótons. Quando um fóton encontra a superfície de um tecido, ele pode ser refletido, refratado, difundido, transmitido ou absorvido. A troca energética ocorre quando um fóton é absorvido pelo tecido, sendo inversamente proporcional ao comprimento de onda do fóton e obedecendo à fórmula $E=h.c.\lambda^{-1}$, onde “E” é a energia absorvida, “h” é a constante de Planck (6,626 X 10⁻³⁴ J seg), “c” é a velocidade da luz em determinado meio e “ λ ” é o comprimento de onda do fóton. A absorção do fóton pelo tecido é, ainda, decorrente da fluência. Fluência é a quantidade de energia (fótons) por área em um único pulso de determinado laser (CHAMON,W. 1995).

Para *resurfacing* de pele com laser *Erbium:YAG* as especificações do

comprimento de onda usado e as combinações de fatores como potência, energia, índice de repetição ou média de disparos (Hz) e tamanho do spot são necessárias para obtenção de efeitos clínicos maximizados. A velocidade do tratamento depende de três parâmetros: potência média (watts), índice de repetição ou média de disparos (em pulsos por segundo ou Hz) e energia (Joules) (Quadro 1).

QUADRO 1 - PARÂMETROS PARA USO DO LASER ER:YAG

20 watts (potência) : 1 Joule(energia)= 20 pulsos por segundo (Hz)
10 watts (potência) : 2 Joules (energia)=5 pulsos por segundo (Hz)

Fonte: WEINSTEIN, C. (publicidade da SHARPLAN)

As substâncias-alvo são conhecidas como cromóforos. Os cromóforos primários da pele são a hemoglobina, melanina e água. Os cromóforos podem, também, ser de fontes exógenas, como pigmentos de tatuagem. Quando um comprimento de onda particular é focalizado em um cromóforo predominante na pele, ele é altamente absorvido, ou seja, há mínima dispersão da luz do laser e o resultado clínico é maximizado (ACHAUER, B.M. 1997).

A reação tecidual decorrente do uso do laser é consequência da chamada fototermólise seletiva, ou seja, o laser aumenta a temperatura do cromóforo alvo. O efeito térmico pode resultar da desnaturação protéica, coagulação ou vaporização e carbonização do tecido. Estes efeitos podem ter como alvo os cromóforos naturais específicos (fototermólise) tais como hemoglobina ou melanina. O tempo de exposição à luz relaciona-se, também, com a fototermólise seletiva. A difusão térmica é limitada se o tempo de exposição à luz for menor do que o tempo de relaxamento térmico específico de cada tecido. Assim, o dano térmico ao redor dos tecidos é minimizado, e somente o tecido alvo é afetado (ACHAUER, B.M. 1997). O tempo de relaxamento térmico (Thermal Relaxation Time – TRT) da pele é estimado em 1/1000 seg. (KHATRI, K.; GOLDBERG, D.J.; MCDANIEL, D.1996).

A fluência de energia e a duração do tempo de iluminação determinam se um

tecido vaporiza ou conduz calor. A vaporização ocorre quando a fluência aumenta a temperatura tecidual passando do ponto de fervura da água (100° C) em tempo menor do que o tempo de relaxamento térmico (tempo necessário para o tecido-alvo esfriar dispersando calor ao tecido adjacente) suprimindo o calor latente necessário para vaporização da água. Ocorre carbonização quando a fluência não for suficiente para a temperatura tecidual a 100°C e não houver energia suficiente para evaporação da água. (DERMATM20 Er:YAG, v.4, n.1, 1997). O início da ablação relatado para “*resurfacing*” a lasers CO2 é 5.0 Joules/ cm² e para o laser *Erbium:YAG*, 1.6 Joules/cm² (McDANIEL, D.H.; ASH, K.; LORD, J.; NEWMANN, J.; ZUKOWAKI, M.1997).

O grau de absorção do comprimento de onda determina a profundidade de penetração da energia de luz. Se um comprimento de onda particular tem um alto coeficiente de absorção e é absorvido eficazmente pelo tecido alvo, sua penetração será superficial. Se um comprimento de onda tem um baixo coeficiente de absorção, a luz do laser penetrará mais profundamente dentro da pele. Comprimentos de onda maiores do que 1.5 µm de absorção no tecido são principalmente controlados pela água. (DERMATM 20 Er:YAG, v.4, n.2, 1997).

O coeficiente de absorção de água tem seu pico em 3µm, , $\alpha = 13000 \text{ cm}^{-1}$, 2 a 4 vezes maior em magnitude do que o pico de emissão do laser Ho: YAG (em 2.1 µm, $\alpha = 50 \text{ cm}^{-1}$) ou da linha Nd: YAG (em 1.06µm, $\alpha \approx 1 \text{ cm}^{-1}$) respectivamente. Esta absorção significa que a emissão do *Erbium: YAG* (comprimento de onda de 2.94µm), é absorvida em uma profundidade muito superficial ($d = 1/\alpha$). Além disso, a precisão da ablação tecidual está no raio de ação de poucos microns, determinada pela profundidade de penetração ótica ($< 1 \text{ µm}$) e zona de dano térmico, entre 5 e aproximadamente 50 µm, dependendo da duração do pulso e média de disparos ou índice de repetição (Hz) (VOGLER, K.; REINDL, M.1996).

O controle de profundidade é básico quando são realizados procedimentos em regiões perioral e periorbital, bem como em outras áreas sensíveis como pescoço e braços. O laser *Erbium: YAG* opera em um comprimento de onda de $2.94\mu\text{m}$, versus o comprimento de onda significativamente longo do laser CO_2 que opera em $10.6\mu\text{m}$. A absorção de água do comprimento de onda do *Erbium: YAG* é aproximadamente dez vezes maior do que a da onda do CO_2 . Considerando-se que a pele tem um alto conteúdo de água (70%), a profundidade de penetração ótica do *Erbium: YAG* na pele é dez vezes mais superficial do que a do CO_2 : $5\mu\text{m}$ para *Erbium: YAG* versus $50\mu\text{m}$ para CO_2 , traduzindo ablação tecidual mais precisa e acurada. Ablações realizadas com *Erbium: YAG* mostram bordas claras com somente uma margem estreita de tecido coagulado e rápida reepitelialização, com pouca ou sem cicatriz. O uso de lasers CO_2 provoca danos no tecido adjacente, com áreas significativas de coagulação e carbonização e baixa epiteliação. O laser *Erbium: YAG* pode liberar acima de 1.7 Joules, a mais alta energia por pulso, com uma potência máxima de 20W, através de todos os índices de repetição, de 5Hz a 12Hz. Com este laser, os índices de repetição e níveis de energia podem ser ajustados, assegurando resultados livres de carbonização. (DERMATM 20 Er:YAG, v.4, n.2, 1997).

Para minimizar o dano térmico, a ablação deve ser feita mais rapidamente do que a condução do calor dentro do tecido, o que acontece se usar um nível de alta frequência e pulsos curtos. Tal otimização, teoricamente, tende a reduzir a zona de coagulação adjacente ao mínimo. A principal diferença clínica entre o “laser” *Erbium: YAG* e o CO_2 repousa na diferença entre suas extensões de absorção no tecido. O laser CO_2 requer alta fluência para ablação e, provavelmente, deixa uma zona de dano térmico acima de $50\mu\text{m}$, mesmo usando pulsos ultracurtos, com alta fluência, sem sangramento observado. Lasers CO_2 convencionais são incapazes de realizar ablação tão precisa quanto os *Erbium: YAG*, mesmo utilizando-se “scanners” sofisticados para aumentar a fluência. A eficiência da ablação em níveis moderados de fluência é mais

alta com laser *Erbium: YAG* do que com CO2. Em níveis comparáveis acima do início da ablação, o laser CO2 tende a aquecer mais tecido, fazendo uma ablação aparentemente menor. Entretanto, em níveis baixos de fluência, ambos afetam um volume tecidual equivalente (MILLER, I.D. 1997).

A extensão do pulso do laser também afeta a eficiência da ablação em um relacionamento inverso. Pulsos curtos, geralmente, causam maior ablação e menor coagulação. A ablação parece produzir resultados preferíveis em parte por estimular a remodelação do colágeno, embora coagulação reduzida cause maior sangramento por deixar abertos mais vasos sanguíneos (MILLER, I.D. 1997).

Quando um laser CO2 (*short-pulsed, char-free*) é usado para fazer ablação de pele para *resurfacing*, uma passada inicial causa aproximadamente 50-60 micra de aparente ablação (50-60 micra de tecido removido da área tratada). Em acréscimo ao total da derme que sofre ablação, um adicional de 50-75 microns de tecido exhibe necrose térmica, produzindo aproximadamente 100-120 micra de dano com a passada inicial. A segunda passada não produzirá a mesma quantidade de destruição tecidual, devido a dissecação da camada superior de células remanescentes da primeira passada. Por causa da diminuição da água na segunda passada e subseqüentes, há menor probabilidade de penetração mais profunda no tecido. No entanto, este fato não constitui uma vantagem, pois a segunda passada libera tanto calor quanto a primeira, portanto, se uma grande parte do calor não é usada para realizar ablação tecidual (e isto é evidente nos estudos histológicos de *resurfacing* com lasers CO2) então a carga térmica do tecido aumenta. Em outras palavras, há maior dispersão térmica dentro da derme reticular. Embora a ação do laser requeira esta dispersão térmica da derme para causar mudanças no colágeno e, subseqüente alisamento de rugas, os fatores de risco levam ao aumento potencial de cicatrizes.

A análise histológica demonstra claramente a superioridade de ablação sobre a epiderme ou derme do laser *Erbium: YAG* sobre o laser CO2. Quase todo o pulso do

Erbium: YAG é convertido para o processo de vaporização e somente uma pequena quantidade (aproximadamente 5 microns) de dispersão térmica pode ser detectada. A limpeza vigorosa necessária para remoção do material necrosado é dispensável com o *Erbium: YAG*. Uma única passada do *Erbium: YAG* produz uma profundidade de ablação de 20-25 micra. Passadas subseqüentes produzem aproximadamente a mesma quantidade de ablação (para cada passada). Há, assim, um controle mais efetivo da profundidade da ablação

Quando a camada de colágeno é alcançada na derme, é possível fazer ablação do colágeno na profundidade desejada (ou seja, remover rugas profundas) sem causar dano térmico adicional. Sem dispersão térmica há um processo rápido de cura (por reorganização celular). O tempo de cura para a área tratada por *Erbium: YAG* pode ser um terço menor do que aquela tratada pelo laser de CO₂ (tendo-se como critério eritema e a reepitelialização). Assim o laser *Erbium: YAG* pode ser usado para realizar um *peeling* suave da epiderme sem destruição da camada basal, com conseqüente cura rápida (KHATRI, K. et al., 1996).

Ao serem comparados os lasers CO₂ e *Erbium: YAG* quanto ao número de passadas, foi observado que um número de passadas igual não produz igual profundidade de resurfacing, ou seja, três passadas com o laser CO₂ é equivalente a sete passadas com o laser *Erbium: YAG* para realizar ablação de 70 µm de tecido (KHATRI, K. et al., 1996).

O laser *Erbium: YAG*, em seu modelo “*Q-switched*”, assegura ablação de aproximadamente 5 a 15 µm de pele, com poucos microns de dano térmico, insuficientes mesmo para lacrar os menores vasos sanguíneos. Em seu modo normal, com uma duração de pulso de 250 microsegundos, realiza ablação de mais tecido por passada, deixando uma zona de dano térmico de aproximadamente 50µm, sendo potencialmente útil para “*resurfacing*” de pele (HRUZA, G.J. e DOVER, J.S., 1996).

O dano térmico reduzido provocado pelo laser *Erbium: YAG* permite uma re-epitelialização rápida, reduzindo, teoricamente, o tempo de recuperação do paciente, a duração do eritema e minimizando o risco de efeitos adversos relacionados ao aquecimento e cicatrizes hipertróficas. Fluências acima da necessária para o início da ablação pelo laser de *Erbium: YAG*, farão com que passadas múltiplas também aumentem o dano térmico e diminuam a profundidade da ablação, mas somente em menor grau comparado àquele do laser CO2 (McDANIEL, D.H. et.al.,1997).

2.2.3 Parâmetros para Funcionamento do Sistema

Vários fatores afetam a exfoliação, envolvendo a balança sutil entre alcançar uma profundidade adequada de *peeling* e causar dano térmico ao tecido residual, equacionando-se com um resultado inaceitável.

O benefício clínico máximo em relação às rugas, cicatrizes ou textura de pele iguala-se à profundidade de exfoliação alcançando o nível da derme papilar para derme reticular. O cenário ideal de ablação a laser requer o alcance deste nível com menor número de passadas combinado com menor quantidade de reação térmica para o tecido residual. Entretanto, devido à espessura tecidual abaixo da derme reticular, nem sempre é possível alcançar a derme reticular com uma única passada sem causar dano térmico significativo. A reação térmica aceitável em espécimes exfoliadas é de 30-50 microns, sem levar em consideração o sistema de laser empregado. Para alcançar a profundidade apropriada da exfoliação, o cirurgião precisa estar constantemente consciente do nível alcançado em cada passada do laser e este nível pode ser determinado pela cor apresentada pelo tecido após a remoção dos “*debris*” exfoliados. Um tom rosa denota epiderme, o cinza se refere à derme papilar, o amarelo-*chamois* à derme reticular (CHERNOFF, W.G. et al., 1995).

Estudos histológicos comparando os sistemas *Ultrapulse* e *SilkTouch* (lasers CO2) determinaram que a primeira passada remove a epiderme deixando atrás uma

zona de 20 a 30 μm de dano térmico na derme. Duas passadas com o *SilkTouch* causam 80 μm de dano térmico; três passadas causam 150 μm de dano. Duas passadas com o *Ultrapulse* resultam em 40 μm de dano térmico e três passadas resultam em 70 μm . O aumento das zonas de dano térmico é, provavelmente, decorrente da dissecação do tecido da primeira e passadas subseqüentes. Cada passada deposita a mesma quantidade de energia, mas o tecido não vaporiza, absorve a energia, aumentando a extensão da zona de dano térmico. Duas passadas com o *SilkTouch* são aproximadamente iguais a três passadas com o *Ultrapulse* em termos de profundidade do dano térmico. Uma passada com o *SilkTouch* aproxima a profundidade do ferimento à daquela causada por uma solução de Jessner de média profundidade e 35% do *peeling* químico por ácido tricloroacético (TCA). Duas ou três passadas aproximam-se à profundidade da dermoabrasão e quatro ou mais passadas aproximam-se à profundidade do *peeling* por fenol de Baker (HRUZA, G.J. 1995).

Análises histológicas (WEINSTEN,C., citado por SHARPLAN®) estabeleceram parâmetros de tratamento para ablação superficial de pele por laser *Erbium: YAG* (Quadro 2).

QUADRO 2 - PARÂMETROS PARA TRATAMENTO

ABLAÇÃO	PROFUNDIDADE	FLUÊNCIA
SUPERFICIAL	0-5 microns	3-5Jcm ²
MÉDIA	10-15 microns	7-10Jcm ²
PROFUNDA	20-30 microns	10-15J cm ²

Fonte: WEINSTEIN, C. (publicidade da SHARPLAN)

São usadas as técnicas “*painting*” para ablação superficial de pequenas áreas cosméticas e “*scanning*” para ablação facial profunda e para as áreas do pescoço e mãos. A primeira produz resultados semelhantes aos do “*peeling*” por TCA e os pacientes se recuperam rapidamente, porém o aperfeiçoamento da pele é sutil. O “*scanner*” realiza ablação homogênea com sobreposição variada dos “*spots*”, podendo ser aclopado ao laser *Erbium: YAG* (Quadro 3).

QUADRO 3 - TÉCNICAS DE TRATAMENTO COM O LASER ERBIUM

PROFUNDIDADE DA ABLAÇÃO	TÉCNICA “PAINTING”		TÉCNICA “SCANNING”	
	RISCO	COMENTÁRIOS	RISCOS	COMENTÁRIOS
EPIDERME – PELE FACIAL Única passada acima de 5J/cm ²	Segura com boa técnica	Padrão randômico Sobreposições (overlaps) acidentais são aceitáveis Sem dor/ sem sangramento	Muito segura	Homogênea Sobreposições mínimas Sem dor/ sem sangramento
EPIDERME – PELE FACIAL Poucas passadas acima de 15J/cm ²	Alguns riscos	Padrão randômico. Pode haver muitas sobreposições, mais doloroso, algum sangramento	Muito segura	Homogênea Sobreposições mínimas. Sem dor, sem sangramento
DERME PAPILAR-PELE FACIAL Várias passadas, acima de 15J/cm ²	Muito risco	Profundo Sobreposições não controladas. Sangramento, risco de cicatriz	Muito segura	Homogênea Sobreposições mínimas Sem sangramento
EPIIDERME –PELE PESCOÇO/MÃOS Única passada 5-10J/cm ²	Muito risco	Sobreposições não controladas Sangramento, risco de cicatriz	Muito segura	Homogênea Sobreposição mínima Sem sangramento

FONTE: SHARPLAN

O tamanho do “spot” e a qualidade do feixe de luz determinam se a potência e a penetração são controladas suficientemente, de forma a resultar em vaporização limpa ou ablação sem dano térmico. Um “spot” de tamanho grande, com suficiente poder de densidade para se obter vaporização capacita vaporização tecidual aplainada, mais uniforme e tempo rápido de tratamento. A qualidade do feixe de luz ou distribuição de energia através do diâmetro do feixe de luz do laser tem impacto significativo sobre a ablação. Um feixe de luz TEM00, com forma Gaussiano, comum a lasers CO2 e alguns lasers *Erbium: YAG* tem poder de densidade irregular ao longo do diâmetro do feixe de luz. A densidade é alta no centro e baixa ao longo da margem causando carbonização na borda da cratera da ablação. Um feixe de luz não Gaussiano, de 3mm de diâmetro é uniforme em densidade e preferível para grandes áreas de ablação (DERMATM20 Er:YAG, v.4, n.1, 1997).

2.2.4 Limitações às técnicas de *resurfacing* a laser

Os benefícios de *resurfacing* de pele são decorrentes dos resultados de pesquisas visando o aperfeiçoamento de parâmetros para utilização dos instrumentos, bem como do desenvolvimento tecnológico propiciando o aparecimento de equipamentos mais sofisticados. Há também, o advento de novos agentes para “*peeling*” e técnicas de dermoabrasão. Estas técnicas para lavar, realizar “*peeling*” e ablação, “*resurface*” ou recondicionar a pele podem ser observadas como um contínuo, em que a severidade da condição do paciente pode ser comparada com a técnica apropriadamente agressiva. Entretanto, apesar da técnica de “*resurfacing*”, há um limite para o que é alcançado somente com operações da superfície da pele.

GOODMAN, P.M. (1998) observa que há três problemas básicos da cosmética facial, para os quais o “*resurfacing*” não produz a resposta completa. Em primeiro lugar está o dinamismo do movimento facial. As linhas do movimento recorrente em pele danificada pelo sol podem ser aperfeiçoadas pelo “*resurfacing*”. Entretanto, “*resurfacing*” não direciona o movimento e estas linhas voltarão com o tempo. Linhas produzidas pela mímica facial como aquelas da área glabellar, fronte, cantos laterais dos olhos e áreas nasais serão melhores tratadas paralizando-as com toxina botulínica. O segundo fator que limita as técnicas de “*resurfacing*” é a redundância de pele. A pele redundante ocorre quando o esqueleto da face e os tecidos profundos, especialmente o subcutâneo, atrofiam com a idade. “*Resurfacing*” causará contração tecidual, porém algum grau de adequação da pele e da musculatura subordinada será necessário para alguns pacientes. O terceiro fator de limitação para “*resurfacing*” é a presença de um déficit substancial de volume. Atrofia subcutânea e dérmica profunda (induzida por doença) pode ocorrer como um resultado dos vários estágios da doença ou como parte do processo de envelhecimento.

FIELD, L.M. (1998) argumenta que a falta de treinamento adequado no uso

dos lasers por médicos jovens, também constitui uma limitação no tratamento por “*resurfacing*” a laser. A compreensão inadequada sobre a cicatrização de ferimentos, bem como sobre o cuidado com problemas de pigmentação gera complicações. Além disso, os cursos de treinamento oferecidos, normalmente voltados para criação de estratégias criativas de “*marketing*”, formulação de planos de propaganda, treinamento e motivação de pessoas, não incluem dados sobre complicações e problemas legais. Sugere-se a realização de treinamento em base interativa (preceptor “*versus*” treinando), em tempo relativamente longo, em que estudos preliminares básicos incluindo complicações deveriam ser ofertados e a necessidade de realização de provas para obtenção de títulos de especialização na área.

2.3 RELATOS DE USO CLÍNICO

Pode-se observar na literatura, grande quantidade de estudos relacionados à aplicação do laser CO₂ em “*resurfacing*” de pele. No entanto, os estudos relacionados ao laser *Erbium: YAG* e aqueles que relatam comparações entre os dois tipos de laser são restritos e a maioria das publicações data da década de 90. Para melhor compreensão e efeito deste trabalho são apresentadas conclusões dos especialistas englobando características como ablação e dano térmico causados pelos dois tipos de lasers.

WALSH, J.T.; FLOTTE, T.J. e DEUTSCH, T.F. (1989) quantificaram o dano térmico causado pela ablação de pele, córnea, aorta e osso por laser *Erbium: YAG*. Foi comparada a zona de dano térmico residual produzida por pulsos modo pontiagudo normal (*normal spiking-mode pulses*), duração do pulso $\approx 200\mu\text{s}$, e por pulsos “*Q-switched*” (duração do pulso ≈ 90 ns). Concluíram que pulsos do modo pontiagudo normal deixam tipicamente 10-50 μm de colágeno danificado na parede lisa da incisão. Entretanto, com altas fluências ($\approx 80\text{J}/\text{cm}^2$) rompimentos são

produzidos na córnea e na aorta e 100µm de colágeno danificado é encontrado na borda da incisão. Pulsos interrompidos (*Q-switched*) causaram menor dano térmico, tipicamente 5-10µm de dano em todos os tecidos.

CHERNOFF, W.G. et al., (1995) examinaram a eficácia do sistemas a laser CO₂ , “*Coherent Ultrapulse*”e “*Sharplan SilkTouch*”, em procedimentos de “*resurfacing*” e na cirurgia de transplante de cabelo, visando observar a precisão no controle de profundidade e no controle linear, sem causar dano térmico significativo às estruturas anexais residuais, bem como procuraram verificar a reprodutibilidade das técnicas. A idade dos pacientes variou de 34 a 78 anos. A população foi constituída por pacientes com todos os tipos de pele, incluindo todas as combinações possíveis de variações de textura, com pele afetada por envelhecimento cronológico, envelhecimento causado por agentes ambientais, rugas finas, moderadas ou profundas e cicatrizes provocadas por acne e varíola. Foram obtidas 498 espécimes histológicas. Em 276 espécimes foram realizados “*resurfacing*”utilizando-se o sistema “*Sharplan*”® e em 222 o sistema “*Coherent*”®. Para análise histológica foram determinados parâmetros para cada sistema, com resultados consistentemente satisfatórios por passada com relação aos níveis aceitáveis de reações térmicas residuais. A revisão das 498 espécimes histológicas revelou os seguintes fatores: a) existe uma curva significativa antes de serem alcançados resultados consistentes; b) é possível alcançar controle de profundidade seletiva; c) os sistemas são passíveis de reprodutibilidade dentro das zonas faciais e de paciente para paciente, d) o controle linear é extremamente acurado com este método de exfoliação, levando a menor variação de pigmento. Observaram que a exfoliação cutânea a laser é possível com reação térmica mínima à derme restante e que esta reação mínima às estruturas anexas restantes assegura cicatrização adequada. Concluíram que resurfacing a laser oferece uma alternativa superior aos métodos convencionais de exfoliação.

FITZPATRICK, R.E.; GOLDMAN, M.P.; SATURN, N.M. e TOPE, W.D. .

(1996), utilizaram o laser CO2 "*Ultrapulse*" para ablação de pele fotodanificada em 73 regiões periorais e periorbitais, Observaram aperfeiçoamento em 46% da região perioral e 48% da região periorbital, após 1 a 12 meses (média 3 meses). Presença de eritema persistente 90 dias após o tratamento em 19 dos 81 pacientes, acompanhados pelo menos durante 90 dias. Não foi observada hipopigmentação. Na área periorbital, todos os pacientes com pele tipo IV (Fitzpatrick) e 27% com tipo III desenvolveram hiperpigmentação pós-inflamatória, enquanto que na área perioral, 17% dos pacientes com pele tipo III e 86% dos pacientes com pele tipo IV desenvolveram hiperpigmentação pós-operatória. A hiperpigmentação foi solucionada dentro de 4 meses em todos os pacientes, após a aplicação regular de ácido retinóico e creme de hidroquinona. A hiperpigmentação não foi observada em pacientes com pele tipo I ou II.

WALDORF, H.A.; KAUVAR, A.N.B.; GERONEMUS, R.G.(1995), analisaram retrospectivamente 47 pacientes cujas rugas periorbitais, periorais e glabellares foram tratadas com laser CO2 "*SilkTouch*", após uma média de acompanhamento de 9.7 semanas. Fotografias anteriores e posteriores ao tratamento foram analisadas, utilizando-se um sistema de avaliação em que 0 (zero) indicou 0% de aperfeiçoamento da severidade da ruga; 1, menos do que 25%; 2, de 25 a 50%; 3 de 50 a 75% e 4 de 75 a 100% de aperfeiçoamento. A média de aperfeiçoamento na severidade da ruga foi de 3.4 na área periorbital, 3.2 na área perioral e 2.7 na área glabellar. Todos os pacientes experienciaram eritema, que foi solucionado dentro de 4 meses.

TRELLES, M.A. (1996) investigaram os efeitos histológicos da profundidade de penetração de passadas única e repetidas do laser CO2 "*Ultrapulse*", sobre a pele do antebraço de quatro mulheres caucasianas (idades 38, 40, 46 e 50 anos). Sobre a superfície volar do braço foram aplicadas uma, duas e três passadas do laser, após anestesia. Foram feitas biópsias, preparadas com hematoxilina e eosina, das

áreas tratadas e analisadas. Observaram que uma passada do laser CO₂ “*Ultrapulse*” causou ablação na maior parte da epiderme. O resultado microscópico de uma única aplicação mostrou propagação não significativa de dano térmico aos tecidos adjacentes ou profundos. Duas passadas sobrepostas causaram ablação em toda a epiderme e na derme papilar superficial., confirmando a observação da microscopia de que não ocorreram mudanças térmicas significativas nos tecidos adjacentes. Três passadas sobrepostas produziram vaporização no nível profundo da derme reticular, sendo notada necrose de coagulação mínima na profundidade do ferimento.

McDANIEL, D.H. et.al.(1997), avaliaram prospectivamente a aplicação de um laser *Erbium: YAG (mid-infrared pulsed)* para determinar sua eficácia clínica em “*resurfacing*” de face, pescoço e mãos. Analisaram, também, as mudanças pós-operatórias e o tempo de recuperação dos 21 pacientes tratados (12 com problemas faciais – pés de galinha; 5 lábios superiores, 3 mãos e 1 pescoço). Os resultados demonstraram que a crosta pós-tratamento findou em uma média de 2.7 dias, a dor em uma média de três dias, eritema em uma média de 5.2 dias e edema em uma média de três dias. Foi realizada uma análise dos pacientes 12 meses após a operação que revelou 52% de melhoria combinada de todas as áreas. A aparência facial foi aperfeiçoada em 58%,; lábio superior em 43%; mãos em 48% e pescoço em 44%. Concluíram que, em geral, o laser *Erbium:YAG* produziu consistente redução de rugas e aperfeiçoamento da aparência de pele danificada pelo sol. O tempo de re-epitelialização e de duração do eritema foram menores do que aqueles tipicamente observados com resurfacing a laser CO₂.

MITTELMAN, H.; KEATING, W., e SMOLLER, B.R. (1993), avaliaram ferimento tecidual humano causado por vários tipos de lasers em cirurgia facial e compararam-no com aqueles causados por eletrocautério convencional e bisturi. Documentaram histologicamente que a aplicação de lasers (CO₂, KTP e Nd:YAG) resulta em maior dano tecidual do que a das técnicas convencionais (lâmina fria de

ação). Relatam que a profundidade causada pelo dano foi a seguinte: CO₂: 0.50 nm epitelial, 0.20 dentro da derme; KTP: 0.52 nm epitelial, 0.40 dentro da derme; Ng: YAG: 0.70 nm epitelial, 0.45 dentro da derme; cautério: 0.75 nm epitelial, 0.20 dentro da derme.

HOHENLEUTNER, U. (1997) procuraram determinar a eficácia da ablação e o total de dano térmico produzido pelo laser *Erbium: YAG* (MCL 29, *Aesculap. Meditec, Heroldsberg*, Alemanha), com comprimento de onda de 2.94 μm , energia máxima por pulso de 500 mJ, duração do pulso de 250 μs , spot de 3 ou 4 mm, índice de repetição 7-10 Hz. Amostras “in vitro” e “in vivo” de ablação sobre pele humana foram obtidas com a aplicação do laser e avaliadas microscópicamente. Os resultados demonstraram que o início da ablação deu-se aproximadamente em 1.6 J/cm². Os níveis de ablação aumentaram linearmente com a fluência e o limite baixo da eficácia foi de aproximadamente 2,5 μm por passada por J/cm², levando a velocidades de ablação de 70-100 $\mu\text{m}/\text{segundo}$ e mais altas. Com o aumento do número de passadas aplicadas sobre um ponto, a ablação decresceu significativamente. O total de dano térmico foi claramente dependente do número de passadas aplicadas (aproximadamente 25 μm com < 10 imp., acima de 100 μm com 40 imp.) ao passo que altas fluências aumentaram minimamente as zonas de coagulação. As amostras “in vivo” confirmaram estes resultados: passadas sobrepostas em um raio de ação de 4J/cm², aplicadas em movimento de varredura, provaram ser ótimas para uma ablação eficiente de pele, com resultante superfície lisa e uma zona de dano térmico não excedendo 50 μm . Ressaltaram, porém, que a ablação permanece limitada à derme superficial, uma vez que a hemostase não pode ser alcançada devido à falta de coagulação. Concluíram que a alta potência e frequência de repetição tornam este laser um instrumento efetivo para ablação de pele, sem aumento de dano térmico.

NEMETH, A.J.; MILLER, I.; GLASS, L.F.; MESSINA, J.L.; REHNKE,

R.D., (1996) iniciou estudo clínico e histológico com o laser *Erbium:YAG* para sequelas de acne e resurfacing, com. Em abril de 1997, em uma apresentação do Congresso anual da *American Society for Laser Surgery and Medicine (ASLMS)* descreveu o tratamento de cicatrizes de acne em 15 pacientes, com vários passos clínicos. Primeiramente tratou todos os pacientes com tretinoína (para acelerar a cicatrização) e aciclovir (para reduzir o risco de infecção viral); depois iniciou a terapia com o laser *Erbium:YAG*, utilizando um scanner, com uma a três passadas sobre toda a face, em uma fluência de aproximadamente 10 J/cm². Em seguida esculpiu as bordas das cicatrizes com um spot pequeno e alta fluência (acima de 80 J/cm²). Estes níveis de fluência removem tipicamente acima de 3µm/J/cm² de tecido. Assim, a epiderme de toda a face, bem como outra camada da derme papilar acima de 100 µm de espessura foi removida durante a fase inicial de baixa fluência: durante a escultura fina, cada passada removeu aproximadamente 250 µm de tecido dérmico, sendo que um total de acima de 1.5 mm foi removido em cada tratamento. Após a remoção de toda a epiderme facial, a camada dérmica papilar rosa foi exposta. Houve algum sangramento durante o tratamento, como esperado de uma zona de coagulação reduzida. Após duas semanas, o processo de cicatrização foi completo, revelando melhoria significativa. A reepitelialização foi completa em 10 dias e o eritema pós-tratamento desapareceu em três semanas. Não houve aparecimento de hiperpigmentação pós-inflamatória.

ROSS, E.V., citado por MILLER, I.D. (1997), descreveu a comparação entre o tratamento realizado com as tecnologias do laser CO₂ e laser *Erbium:YAG* em *resurfacing* de face de 20 pacientes. Realizou várias passadas com cada laser para criar uma profundidade de dano cumulativo equivalente (ablativo mais coagulativo), requerendo acima de 8 passadas com o laser *Erbium*, comparadas com três passadas do laser CO₂. O tempo de tratamento foi comparável, uma vez que a remoção de debris entre as passadas não era necessária quando o *Erbium:YAG* era usado. A contração da

pele causada pelo laser CO₂ foi associada com melhores resultados em algumas rugas profundas, enquanto que o resultado foi similar para ambos os lasers em rugas finas (superficiais). Em todos os casos o laser *Erbium:YAG* produziu mais rápida re-epitelialização e decréscimo do eritema. Postulou que o procedimento a *Erbium* pode ser melhor apropriado para pacientes jovens, com pele danificada pelo sol e rugas finas.

DRNOVĚK-OLUP, B. e VEDLIN, B. (1997) utilizaram o laser *Erbium:YAG* para tratamento de 64 pacientes com desordens benignas de pele, como ceratose seborreica, verruga plana, milia, xantelasma, hidroadenoma, cloasma, lentigo senil, nevo epidérmico, ceratose actínica, pólipo fibroepitelial e cicatrizes. As lesões foram irradiadas com energias de 100-1000 mJ, com índices de repetição de 2-10 Hz e diâmetros de 2-8 mm do spot. Os resultados demonstraram que a epiderme foi efetivamente removida na base de camada por camada. Para ablação foram necessárias densidades de energia mais altas do que 2.5 J/cm². Na presença de sangramento foi obtido efeito hemostático pela irradiação da superfície do sangramento, com poucos pulsos do laser, de baixa potência de densidade (0.5-1.5 J/cm²). Não foram observadas cicatrizes durante a recuperação.

KYE, Y.C. (1997) mensurou a eficácia e segurança do laser *Erbium:YAG* em *resurfacing* de cicatrizes faciais. Foram incluídos no estudo trinta pacientes portando cicatrizes pequenas, de varíola e de acne, todos com tipos de pele III e IV. Os pacientes foram instruídos quanto ao uso do creme tretinoína 0.05% à noite, por duas a quatro semanas antes do tratamento. Foi usado um laser *Erbium:YAG*, com uma peça manual de 2mm, com 500mJ/pulso, 3.5 - 4.5 W. Duas semanas após o tratamento, foi recomendado a aplicação tópica de hidroquinona a 4%, tretinoína a 0.05% e creme de hidrocortisona a 1%, para uso durante duas a quatro semanas. Fotografias faciais foram obtidas com duas semanas de intervalo pós-operatório. Os resultados foram avaliados quanto às mudanças de textura e cor da pele em duas semanas, um e três

meses. Três pacientes com cicatrizes de acne concordaram com a realização de biópsia de pele. Os resultados indicaram que três meses após o tratamento, todos os pacientes com cicatrizes pequenas de varicela, tiveram melhoria de 55% e pacientes com cicatrizes de acne em média de 40%. Concluiu que *resurfacing* de pele com laser *Erbium:YAG* é um tratamento efetivo e seguro para cicatrizes faciais.

TEIKEMEIER, G. e GOLDBERG, D.J. (1997) avaliaram o papel do laser *Erbium:YAG* no tratamento de rugas. Vinte pacientes com rugas periorais, periorbitais e de frente foram tratados. Pulsos de energia variando entre 400 e 800 mJ foram utilizados, bem como *spots* de 2.5 e 5 mm. Os pacientes foram avaliados em dois dias, um mês e dois meses pós-operatório quanto ao eritema, tempo de cicatrização, grau de aperfeiçoamento e cargas pigmentárias. Todos os pacientes mostraram aperfeiçoamento das rugas. A reepitelialização ocorreu entre 4 e 10 dias. O eritema pós-operatório foi solucionado em menos de duas semanas. Melhoria clínica ocorreu entre 3 e 8 semanas após o tratamento. Concluíram que o laser *Erbium:YAG* tem um papel importante no tratamento de rugas superficiais.

ADRIAN, R.M. (1998) tratou vinte pacientes com rugas faciais utilizando um laser CO₂ de um lado e um laser *Erbium:YAG* do lado oposto. Neste estudo, usando-se 10-15 pulsos (200-250 U) de *Erbium:YAG*, 10 J com um spot de 5 mm (ablação 200-275 U), diferenças significativas em dor pós-operatória, cicatrização e eritema foram menos aparentes. Observou que quando profundidades iguais de coagulação tecidual (CO₂) e ablação tecidual (*Erbium YAG*) são comparadas, seqüelas pós-operatórias são menos divergentes. Concluiu que linhas finas mostraram eficácia usando *Erbium:YAG*, rugas profundas apresentaram resposta ao *resurfacing* por CO₂.

BASS, L.S. (1998) avaliou o tempo de recuperação, duração do eritema e melhoria clínica usando *resurfacing* a laser *Erbium:YAG* (comprimento de onda 2.94 μ m, pulso 350 μ seg., 2 J, spot 3=5 mm). Foram tratados 25 pacientes com duas passadas em toda a face e de três a cinco passadas foram realizadas em unidades

estéticas muito afetadas. A cada visita de acompanhamento, porcentagens de re-epitelialização, eritema e inchaço foram mensuradas e a presença ou ausência de complicações foi observada. Melhoria clínica foi avaliada em até 6 meses por profilometria ótica em um subconjunto de pacientes. *Resurfacing* por *Erbium:YAG* produziu uma brancura transitória da derme seguida de uma retomada da aparência rosa. O ponto final cirúrgico foi julgado pela eliminação de rugas visíveis ou presença de sangramento pontuado. Sangramento da superfície dérmica foi menor do que o comumente encontrado com a dermoabrasão, porém maior do que aquele provocado por *resurfacing* a laser de dióxido de carbono. Uma quantidade moderada de contração tecidual foi observada durante o tratamento. O período médio de total epitelialização foi 6.9 ± 0.97 dias (entre 5-9 dias). A duração média do eritema (4.24 ± 1.5 semanas) foi relativamente curta comparada com *resurfacing* a dióxido de carbono. Melhoria clínica foi $44 \pm 30\%$ na área lateral da face e $55 \pm 22\%$ na área do lábio superior. Não foram observadas infecções ou cicatrizes hipertróficas. Hiperpigmentação e hipopigmentação foram observadas em 24% e 12% dos pacientes respectivamente. *Resurfacing* com *Erbium:YAG* é um meio fidedigno de se obter melhoria de rugas com menor tempo de recuperação e duração de eritema comparando-se com aqueles obtidos por dióxido de carbono. A técnica é significativamente diferente da de *resurfacing* por dióxido de carbono quanto a seleção do ponto final, número de passadas e níveis de energia.

PEREZ, M.I., et.al. (1998) avaliaram clínica e histologicamente parâmetros específicos de tratamento de rugas por laser *Erbium:YAG*. 15 pacientes apresentando rugas faciais periorais, periorbitais e totais foram tratados com o laser Erbium, utilizando-se 0.8 – 1.0 J, spot 5 mm, com fluência final de 4 – 5 J/cm². Após o tratamento, os pacientes foram avaliados diariamente por 7 dias e semanalmente por dois meses para observação do eritema, tempo de recuperação, melhoria e mudanças de pigmentação. Foi feita, também, avaliação histológica da pele facial preauricular

“ex vivo” para determinar a profundidade de penetração das múltiplas passadas do laser. Os resultados demonstraram que todos os pacientes apresentaram algum grau de melhoria de suas rugas. A reepitelialização ocorreu entre 3 e 8 dias e todas as evidências do eritema foram solucionadas entre 3 e 6 semanas após o tratamento. O nível de ablação constatado foi o seguinte: depois de uma passada há ablação da epiderme abaixo da camada granulosa, sob a qual há uma fina camada de dano dérmico e os queratinócitos mostram edema intracelular; após duas passadas do laser há ablação da epiderme ao nível da camada basal, dano térmico mínimo e queratinócitos basais lesados podem ser identificados; depois de três a quatro passadas, a epiderme mostra ablação total com uma derme papilar reativa, demonstrando perda do arranjo do colágeno e orientação perpendicular das fibras de colágeno; depois de cinco a seis passadas há ablação total da epiderme e dentro da derme papilar, com pouca necrose térmica. A derme papilar e reticular superficial mostram perda do arranjo e orientação perpendicular das fibras de colágeno, ilhas de pele normal sugerem que menor dano térmico permite que estruturas anexais persistam nas áreas tratadas. Após cinco ou seis passadas há ablação da derme papilar profunda e da derme reticular superficial. Concluíram que o laser *Erbium:YAG* tem um papel significativo no tratamento de rugas superficiais e médio-profundas.

WEINSTEIN, C. (1998) realizou estudo de 141 pacientes usando um laser *Erbium:YAG* computadorizado, “*scanning*”, observando que foi possível fazer ablação precisa da pele com menor dano térmico do que aquele observado com os lasers CO2 disponíveis. O sistema de *scanning* permitiu realizar ablação homogênea e precisa da epiderme e da derme superficial, embora *resurfacing* profunda levasse ao aparecimento de sangramento pontuado. A recuperação foi mais rápida do que geralmente é experienciado usando-se lasers CO2. O eritema foi menos marcado e desapareceu dentro de 3 a 4 semanas. Estudos histológicos confirmaram o grau mínimo de dano térmico, como evidenciado clinicamente, ou seja, as biópsias

mostraram que usando-se 5 J/cm², 20 Hz, 30% de sobreposição do *scanner* foi produzido dano epidérmico superficial (30-40 µm), com necrose térmica sem importância. Usando-se 10 J/cm², 20 Hz, 30% de sobreposição, foi produzido dano epidérmico ao nível da camada basal (50 µm), com necrose térmica mínima (5 µm). Usando-se 15 J/cm², 20 Hz, 30% de sobreposição, foi produzido dano total da superfície epidérmica, penetrando através da membrana basal, mas produzindo ablação mínima (20 µm) da derme papilar superior, com uma faixa muito pequena de necrose térmica (10 – 15 µm). Digna de menção foi a preservação de folículos pilosos em todas as espécimes analisadas. Com 20 J/cm² (uma passada em 15 J/cm², uma passada em 5 J/cm²), 20 Hz, 30% de sobreposição, foi feita ablação completa da epiderme com significativa ablação da derme papilar (40 µm), com uma pequena faixa de necrose térmica (5 – 15 µm). Altas fluências cumulativas levam à ablação profunda sem outros incrementos de necrose térmica. A zona de necrose térmica produziu uma faixa basofílica (hematoxilina e eosina) comparada com resurfacing a laser CO₂, que produziu uma faixa eosinofílica. Outras biópsias tiradas do antebraço em seis semanas demonstraram formação de novo colágeno e perda de elastose solar, mas somente foram obtidas com fluências cumulativas de 20 J/cm², 20 Hz, 30% de sobreposição do *scanner*, ou seja, fluências de pelo menos 20 J/cm² foram necessárias para produzir nova formação de colágeno.

HUGHES, P.S.H. (1998), objetivou mensurar a contração cutânea resultante de *resurfacing* a laser *Erbium:YAG*. Utilizando lentigos como marcas de pele, foi feito *resurfacing* de áreas quadradas sobre a pele do antebraço. A distância entre as marcas de pele foi mensurada antes, imediatamente depois, em três dias e semanalmente por 16 semanas depois da cirurgia. Os resultados mostraram que após 2 a 3 passadas do laser *Erbium:YAG* houve um imediato retesamento linear da pele de 4%, que persistiu durante 3 dias, aumentando para 8% em uma semana, 11% em 2 a 4 semanas, 13% em 6 semanas e 14% em 16 semanas. Concluiu que *resurfacing* a laser *Erbium:YAG*

produz contração cutânea mensurável e que este fenômeno pode contribuir para o positivo retesamento clínico da pele humana.

POLNIKORN, N.; GOLDEBERG, D.J. (1998), procuraram determinar a eficácia e segurança do tratamento por laser *Erbium:YAG* (com características como 2,940 nm comprimento de onda, duração do pulso de 250 microsegundos, liberação de energia acima de 1 J por pulso e um spot de 2-5 mm, com um índice de repetição de 1.10 Hz, sendo que as fluências variaram entre 5 e 15 J/cm²) em 50 pacientes com pele do tipo asiático, apresentando rugas, cicatrizes, alteração pigmentar e uma variedade de crescimentos cutâneos. Os indivíduos foram avaliados quanto à eficácia clínica, cicatrização do ferimento, eritema pós-operatório e mudanças pigmentares pós-inflamatórias. Os resultados apresentaram melhoria significativa em todos os pacientes, com os seguintes graus de aperfeiçoamento: tratamento de rugas, 100% de melhoria na textura da pele e 80% na remoção de rugas; rinofima e cicatrizes de varicela (90%); cicatrizes de acne (50 a 60%); pacientes com pele envelhecida por agentes ambientais e melasma experienciaram 70 e 60% respectivamente de melhoria. Períodos de pequena duração (5-7 dias) para re-epitelialização e resolução do eritema (1 a 8 semanas) foram notados quando comparados com resultados previamente relatados de resurfacing a laser de dióxido de carbono. Concluíram que o laser *Erbium:YAG* é um meio seguro e efetivo para tratamento de pele do tipo asiática.

2.4 RELATOS DE USO EXPERIMENTAL

2.4.1 Em porco /coelho

KAUFMANN, R. e HIBST, R. (1989), usando um “*pulsed XeCl Excimer*” laser (308 nm) e um laser *Erbium: YAG* (2,940 nm) investigaram ablação de pele como função do número de pulsos, energia irradiada e índice de repetição (Hz). A

análise das lesões “in vitro” realizada em pele humana excisada foi consistente com resultados “in vivo” obtidos de experimentos em pele de porco. A radiação do “Excimer” laser (308 nm) causou considerável dano térmico não específico no tecido, seguido por uma reação inflamatória e prejuízos no processo de cicatrização de lesões “in vivo”. Estas descobertas foram especialmente pronunciadas com altos índices de repetição necessários para destruição eficiente de grandes lesões. Por outro lado, a radiação por 2,94µm do laser *Erbium: YAG* produziu lesões claras e precisas com dano térmico adjacente mínimo. O laser *Erbium: YAG* causa ablação tecidual com pouca vaporização e dissecação de tecido. Ablação de pele “in vivo”, com penetração profunda, causou hemorragia. Concluíram que o laser *Erbium: YAG* parece ser um promissor instrumento cirúrgico para remoção cuidadosa de lesões da epiderme superior, se altos índices de repetição e um apropriado sistema de laser estiverem disponíveis para uso clínico.

HIBST, R. e KAUFMANN, R. (1991), investigaram os efeitos de diferentes parâmetros (níveis de energia, radiações, número de pulsos e índices de repetição) do laser *Erbium: YAG* em ablação de pele, apresentando mensurações “in vitro” dos níveis de ablação e “in vivo” dos efeitos do dano e da temperatura, visando compreender os mecanismos de ablação de pele por raio infravermelho. Observaram que a radiação do laser *Erbium: YAG*, nos experimentos “in vitro” resultou em crateras cônicas. Seus diâmetros sobre a superfície da pele foram de aproximadamente 900µm, maiores do que o diâmetro do feixe de luz (690µm). Por um índice de repetição do pulso de 1 Hz, a profundidade da cratera por pulso está relacionada linearmente com a energia e a exposição da radiação, sendo que a linha reta cruza o x-axis em 9.4Jcm². Aumentando-se o índice de repetição para 2Hz aumenta-se o índice da ablação para baixa exposição de radiação, mas decresce para maiores, ou seja, maior energia, maior a cratera. A ablação aumenta com o aumento de Hz para baixa energia. Foi medida, também, a média da temperatura após o pulso e encontrada temperatura isotérmica de

perfil concêntrico em torno da cratera, utilizando-se pulsos de laser de 100mJ e 300mJ e frequência de pulso de 1 a 5Hz. Com 300mJ a temperatura variou entre 40, 50 e 60°C; com 100mJ não alcançou 50°C, mesmo quando se utilizou 5Hz. Com maior energia e maior número de Hz, mais pulsos são necessários para alcançar estado estável. As mensurações da temperatura indicaram que para um pequeno número de pulsos ou para energia baixa, temperatura bastante alta para causar dano térmico está limitada à estreita vizinhança da cratera. Correspondendo ao perfil da temperatura mensurada, o laser *Erbium: YAG* induziu lesões finas, com margens claras, sem sinais aparentes de dano térmico. Conseqüentemente, sangramento capilar ocorreu quando as crateras alcançaram a derme papilar. A histologia apresentou somente poucos sinais de coagulação nas paredes e ao fundo da cratera, mas uma grande zona de dano na epiderme adjacente e na derme superior. A largura do dano não foi constante ao longo da superfície da cratera, mas irregular. Foi, ainda, medida a extensão máxima de coagulação na parte mais funda e nas paredes da cratera. Danos da epiderme e da derme foram determinados pela zona de distorção celular. Concluíram que a temperatura necessária para o laser *Erbium: YAG* induzir ablação de pele não é maior do que 100°C e que o dano térmico decorrente da desnaturação protéica é um processo dependente do tempo e da temperatura. O perfil da temperatura, por sua vez, depende da energia dos pulsos do laser e dos índices de repetição. Para aplicações clínicas, o uso de altas exposições de radiação aumenta o nível de ablação sem afetar a zona de dano térmico.

JAFFE, B.H. e WALSH, J.T. (1996), avaliaram os efeitos dos variados graus de dano térmico causados pelo laser sobre o processo de cicatrização. Lesões de espessura parcial foram criadas em pele de porco da índia (cobaia) utilizando-se um laser Er:YAG, um laser Ho: YAG e um bisturi. Para monitorar a recuperação da camada córnea, o fluxo de água dos locais de ferimento foi quantificado e dados histológicos obtidos durante aproximadamente uma semana. Os resultados indicaram

um padrão exponencial de perda de água em todos os ferimentos. O fluxo da água nos ferimentos induzidos por bisturi e laser Er:YAG foi inicialmente alto, porém decresceu rapidamente com índices de declínio (média \pm SE) de 0.46 ± 0.01 ao dia-1 e 0.38 ± 0.01 ao dia-1, respectivamente. Os ferimentos induzidos pelo laser Ho:YAG demonstraram um padrão de declínio diferente com baixos valores de fluxo de água inicialmente e um índice de declínio de somente 0.13 ± 0.01 ao dia-1. Concluíram que os dados histológicos e de fluxo de água revelam que ferimentos induzidos por laser Er:YAG obtêm integridade epidérmica rapidamente, ao passo que lesões induzidas por bisturi e ferimentos induzidos por laser Ho:YAG apresentam cicatrização substancialmente vagarosa e contêm maior granulação tecidual.

CUBEDDU, R. (1996), estudaram os mecanismos de ablação de córneas de coelho, utilizando o laser *Erbium:YAG*, bem como a ocorrência de danos térmicos e mecânicos no tecido como função da fluência do laser. Os experimentos foram realizados sobre olhos enucleados e “in vivo”. Uma técnica de imagem ultra-rápida foi usada para analisar a evolução dinâmica da ablação. As amostras tratadas foram submetidas ao estudo histológico e ultra-estrutural. Os resultados indicaram que uma única alta fluência do laser levaria à completa remoção do epitélio por um efeito fotomecânico. Em olhos, cujo epitélio foi removido manualmente, pulsos de alta fluência resultaram em evidentes rompimentos no estroma; pulsos de baixa fluência em micro-incisões profundas, caracterizadas por danos mecânicos e térmicos limitados. Concluíram que a ação fotomecânica tem um papel significativo na ablação de córnea por laser *Erbium:YAG* e que o controle preciso da fluência é necessário para evitar o fenômeno de rachadura no estroma.

KAUFMANN, R. e HIBST, R. (1996), utilizando um laser *Erbium:YAG* de alta potência, com fluência de energia de mais do que 1.5J/pulsos e índices de repetição acima de 15Hz, investigaram a ablação em pele de porco “in vitro” e “in vivo” e sobre um total de 30 pacientes que apresentavam diferentes desordens de pele.

Os resultados demonstraram que a eficiência da ablação “in vitro” cresce linearmente com exposição radiante e está inversamente correlacionada com a frequência dos pulsos. O nível de ablação em 10Jcm^{-2} (usado clinicamente) foi mensurado entre $\sim 10\text{ }\mu\text{m}$ (em 10Hz) para $40\text{ }\mu\text{m}$ (em 1Hz). Para altos índices de repetição, a necrose térmica também não excedeu $50\text{ }\mu\text{m}$, correspondendo clinicamente à hemorragia capilar depois da exposição da derme. Lesões superficiais, tais como nevos epidérmicos, foram facilmente retiradas e a re-epitelialização estava intacta devido à falta de necrose tecidual. Tatuagens, partículas pigmentadas foram precisamente removidas. Entretanto, em lesões profundas, o começo da hemorragia impediu o procedimento e foi observada formação de cicatriz após a re-epitelialização. Concluíram que a cirurgia pelo laser permite uma retirada extremamente precisa de lesões superficiais de pele e que o instrumento tem potencial para resurfacing de pele.

2.4.2 Em ratos

ZWEIG, A.D.; FRENZ, M.; ROMANO, V.; WEBER, H.P.(1988), compararam a profundidade e a forma dos orifícios produzidos por pulsos únicos dos comprimentos de onda $2.94\text{ }\mu\text{m}$ e $10.6\text{ }\mu\text{m}$ em amostras de gelatina e tecido, explicando que a gelatina foi escolhida como substituto por seu conteúdo de água e elasticidade. Enfatizaram, também, a profundidade de penetração ótica e a forma do pulso no processo de ablação. Mensuraram a profundidade dos orifícios produzidos pelo laser “versus” a energia do pulso para ambos os comprimentos de onda, trabalhando com diâmetros do “spot” focal que variaram entre 90 a $360\text{ }\mu\text{m}$ ($1/e^2$ em intensidade). Os orifícios foram criados por pulsos únicos de radiação TEM00 e as mensurações, realizadas no local das crateras alguns μs depois do fim do pulso do laser. Os pulsos tiveram uma duração de $250\text{ }\mu\text{s}$ e energias de 49mJ para o laser *Erbium: YAG* e de 90mJ para o laser CO2. Concluíram que a ablação tecidual em comprimento de onda

2.94 μm e em 10.6 μm provém da evaporação e remoção de líquido. O índice de evaporação determina a temperatura e a pressão na fase inicial. A extensão do processo de ejeção depende das propriedades elásticas da amostra e de sua viscosidade em estado líquido, bem como do feixe direcional (raio de luz) e da profundidade de penetração ótica do feixe de corte. Em 2.94 μm o processo de ejeção é mais pronunciado e o líquido disperso tem uma temperatura média mais baixa do que em 10.6 μm . Como consequência o dano térmico adjacente para incisões a laser é reduzido quando cortado com laser *Erbium:YAG*.

BASS, L.S. citado em *resurfacing studies* (1997), realizou uma série de experimentos “in vitro” sobre amostras de pele, usando de uma a quatro passadas com um laser *Erbium:YAG*, um laser *CO2 short-pulse*, um laser *CO2 long pulse* e um laser *CO2 scanned*, para mensurar a retração tecidual e examinou-as em microscópio para verificar o dano térmico. Os resultados mostraram que o laser *Erbium* e o laser *CO2 short-pulse* causaram o mais baixo nível de dano térmico, enquanto que o maior nível foi causado pelo laser *CO2 scanned*. Durante a realização das múltiplas passadas com os lasers *CO2 long-pulse* ou *scanned*, a profundidade do dano térmico aumentou em cada passada. Com o laser *Erbium*, a profundidade do dano térmico permaneceu aproximadamente a mesma, independentemente do número de passadas. Observou que estes resultados sustentam seus achados clínicos e que o tempo de recuperação do tratamento realizado com o laser *Erbium:YAG* durou de 5 a 7 dias em vez dos 10 a 14 dias do tratamento por *CO2* e o eritema persistiu por um mês em vez de dois a três meses experienciados com os tratamentos do laser *CO2 long-pulse*.

3 MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho foi realizado no Instituto de Pesquisas Médicas do Curso de Pós-Graduação em Princípios de Cirurgia (IPEM) da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná (FEMPAR), Hospital Universitário Evangélico de Curitiba (HUEC) e no Instituto Sul Brasileiro de Cirurgia Plástica, Curitiba – Paraná.

Aplicaram-se as **Normas para Apresentação de Trabalhos** da Universidade Federal do Paraná (1994), as **Normas para Referências Bibliográficas** (NBR 6023) e para **Abreviação de Títulos e Periódicos** (NBR 6032) da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Utilizou-se a **Nomina Anatomica Veterinaria** (1983) obedecendo-se aos princípios éticos na experimentação animal segundo o preconizado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

3.1 AMOSTRA

Foram utilizados 3 ratos machos (*rattus norvegicus* variação *albinus*, *rodentia mammalia*, da linhagem *EPM-1- Wistar*) todos aparentemente saudáveis, com idade de 90 dias e peso entre 250 e 300 gramas. Os animais eram provenientes do biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), Colombo - Paraná.

Foram transportados para o biotério do IPEM, onde permaneceram confinados em gaiolas e mantidos com alimentação padrão e água *ad libitum*, em temperatura ambiente e iluminação natural sendo o fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando o período de luz das 7 às 19 horas.

3.2 - EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

3.2.1 o aparelho de laser

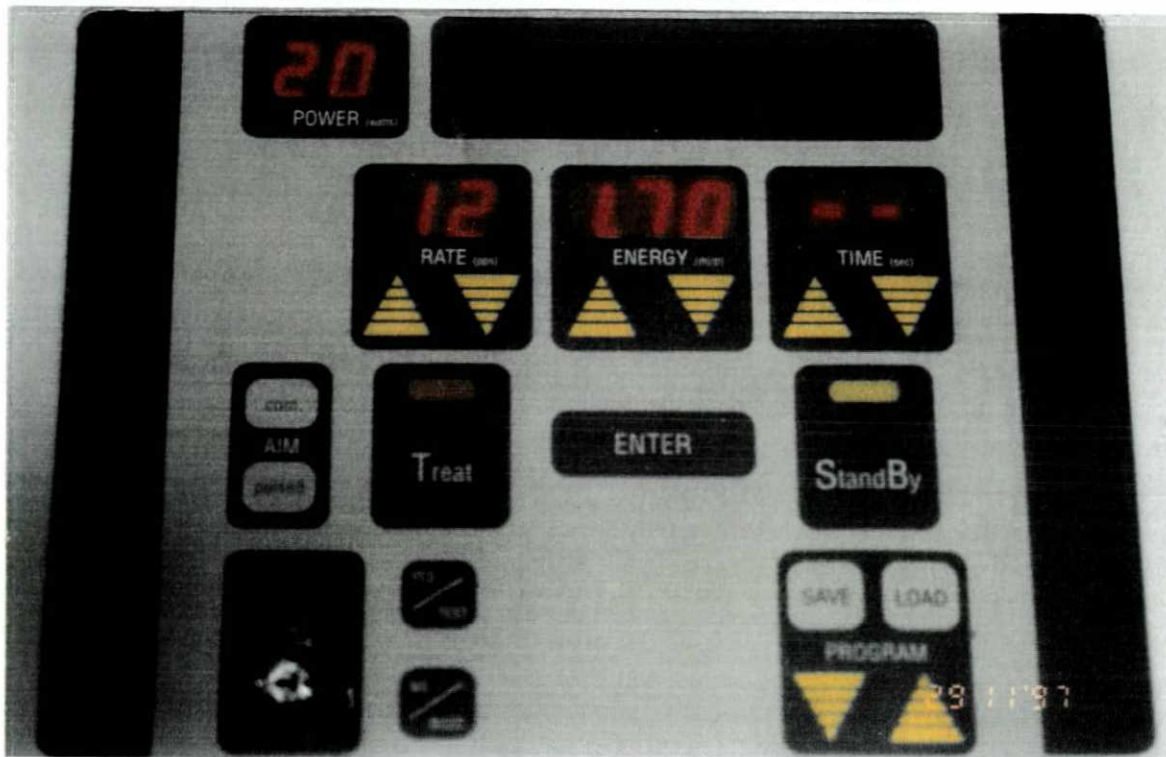
Foi utilizado um aparelho de laser *Erbium: YAG* de nome comercial *DERMA 20*, produzido pela *ESC Medical Systems Ltd.*, Yokneam, Israel.

Este laser produz um feixe de luz infravermelho de 2.94 micrômetros de comprimento de onda. Com energia transmitida em cada pulso ajustável e que varia de 0,1 a 1,7 joules. A frequência de pulso (pulsos por segundo), varia e pode ser ajustada de 5 a 12 Hz e a duração de cada pulso é de 350 microsegundos. O diâmetro do feixe de laser que atinge o alvo é de 3 mm (*spot size* de 3 mm). A potência do aparelho varia de 1 a 20 watts.

Como o comprimento de onda do raio laser é invisível, utiliza-se um raio visível de baixa energia (laser diodo vermelho), liberado junto com o raio laser principal promovendo o alinhamento no alvo.

Este sistema de laser *Erbium:YAG* é calibrado automaticamente quando ligado. Dispõe de um sistema de transmissão do raio laser feito através de um braço articulado contendo 7 espelhos fixos e imóveis. Este sistema de laser de *Erbium:YAG* permite que sejam feitas até 20 programações diferentes. Dispõe um sistema de refrigeração em seu interior. Como requerimentos elétricos é preciso 220 volts de corrente alternada e permite uma variação de mais ou menos 20%. A amperagem é de 16 em fase única e 50 a 60 Hertz. Este aparelho *DERMA 20* tem as seguintes dimensões: 40 cm de largura, 65 cm de profundidade e 100 cm de altura e pesa 115 Kg (Figura 1).

FIGURA 1: PAINEL DO APARELHO DO LASER ERBIUM: YAG



3.2.2 INSTRUMENTAL

3.2.2.1 C.P.G. (*Computerized Pattern Generator*)

Conhecido também como *scanner*, é um microprocessador conectado ao aparelho de laser com menu controlador. Para que este sistema funcione é necessário que uma caneta especial seja acoplada ao braço do aparelho. Esta caneta (*handpiece*) recebe e transmite a programação estabelecida pelo *scanner*.

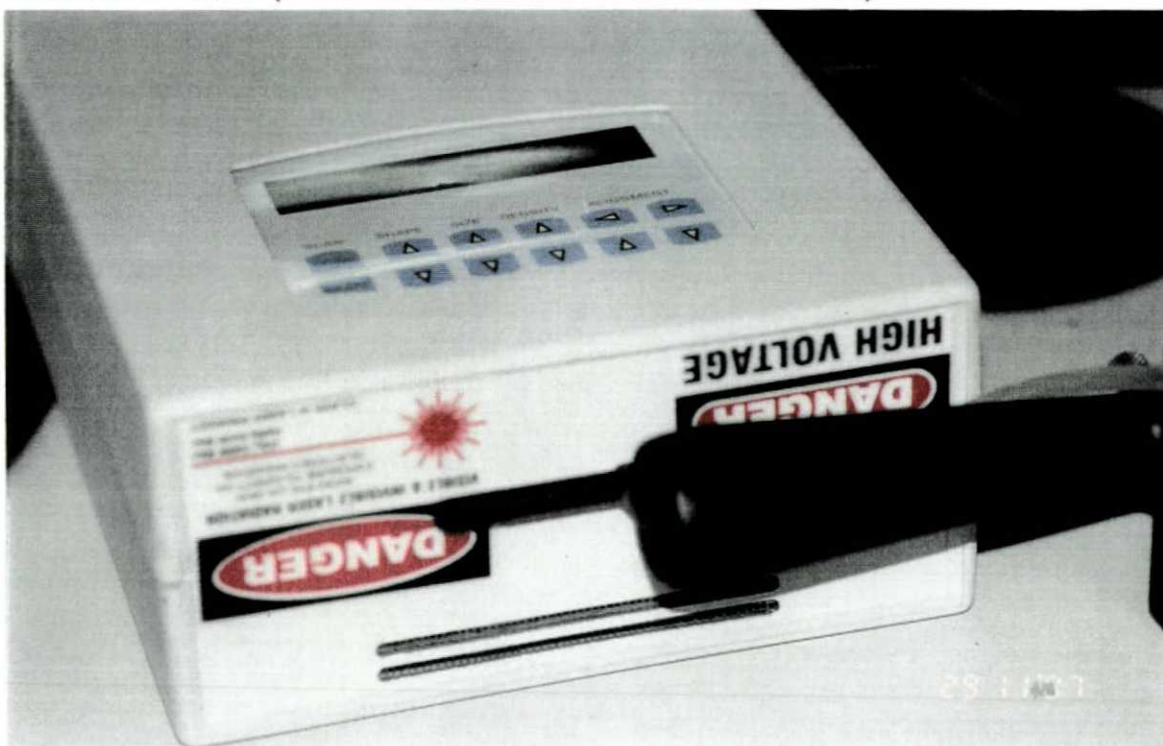
É indicado para ser utilizado no modo pulsátil para ablação de grandes áreas como o rosto.

Através do *scanner*, pode-se definir o modelo geométrico da distribuição do laser sobre a superfície escolhida. Existem seis opções de formas: quadrada, retangular, hexagonal, triangular, paralelograma e linear. Estes modelos geométricos podem ser orientados de posição com giros de 0 a 350 graus.

O *scanner* permite que se estabeleça o número de pulsos no mesmo local (número de passadas) que pode variar de 1 a 20 vezes. O aparelho permite ainda estabelecer o grau de sobreposição (*overlap*) dos *spots* e varia de 0,1 a 5,0 mm a distância entre o epicentro de um spot e o seu subsequente. Lembrando que os *spots* têm tamanho fixo de 3 mm de diâmetro.

Como proteção o *scanner* dispõe de um sistema de segurança e proteção do hardware e do software. *Park.Yokneam.Israel* (Figura 2).

FIGURA 2 - C.P.G (COMPUTERIZED PATTERN GENERATOR)



3.2.2.2 O aspirador

Foi utilizado aspirador da marca *Acu-Evac*™, com a característica de alta eficiência de aspiração de partículas e fumaça, fabricado na Flórida, E.U.A.

3.2.2.3 Câmera fotográfica e microscópio

Os resultados das lâminas foram registrados na forma de fotomicrografias através de uma câmera fotográfica *Olympus C-35 DA2* acoplado ao microscópio *Olympus BH-2* trinocular.

A leitura das lâminas foi feita através de microscópio binocular *Olympus BH-2*, com grátícula F10 (20,4 nm), com objetivas de 4, 10 e 40.

3.3 MEDIDAS DE SEGURANÇA

Como medidas de segurança durante a utilização do sistema de laser de *Erbium:YAG*, foram utilizados óculos de proteção infravermelho, luvas cirúrgicas descartáveis e remoção de qualquer objeto metálico do campo operatório, que pudesse refletir o raio laser. Durante o procedimento cirúrgico as portas do centro cirúrgico permaneceram fechadas com aviso de não entrar. Os campos cirúrgicos permaneceram úmidos em soro fisiológico. O aspirador de alta potência permaneceu ligado durante todo o período de aplicação do raio laser.

3.4 ANESTESIA

Os animais ficaram afastados do biotério do IPEM, por um período de 3 horas. Neste tempo foram deslocados até o Instituto Sul Brasileiro de Cirurgia Plástica (Curitiba –Paraná) onde foram submetidos às lesões com o sistema de laser de *Er:YAG*. Em seguida retornaram ao biotério do IPEM para colheita de material e sacrifício dos mesmos.

Os animais foram colocados dentro de campânulas de vidro, onde foi

iniciada a anestesia por inalação de éter sulfúrico e mantidos anestesiados com máscara de éter e respiração espontânea.

3.5 ATO OPERATÓRIO

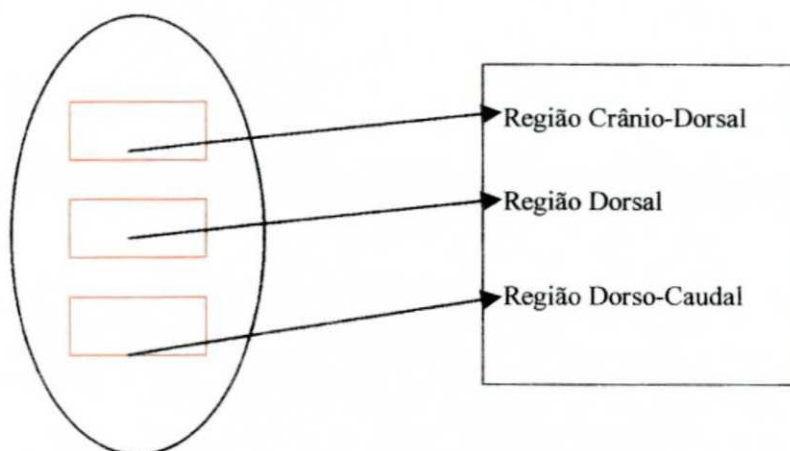
3.5.1 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Com os animais em decúbito ventral e imobilizados sobre prancha de madeira realizou-se a tricotomia da região dorsal de cada um dos ratos por tração manual dos pêlos. A tricotomia foi ampla e incluiu toda a região dorsal do animal, indo da região cervical até o início da cauda, limitada lateralmente pelas articulações escapulo-umeral e coxo femoral.

Não se realizou anti-sepsia antes do experimento ou em qualquer outro tempo operatório ou pós-operatório.

Os locais de aplicação do laser foram definidos como: crânio dorsal, compreendido entre a região cervical até 2 cm em direção à cauda limitados no sentido latero-lateral pela articulação escapulo-umeral. Região dorso caudal compreendida entre a implantação da cauda até 2 cm acima no sentido caudal -cranial. Delimitou-se suas laterais pelas articulações coxo-femorais e finalmente foi denominada como região dorsal, a área compreendida entre as duas regiões anteriores.

Para a identificação do local de cada ferida experimental e área controle, o dorso depilado de cada um dos animais foi demarcado em formato de um quadrado medindo 1 cm² com caneta dermatográfica (Esquema 1).



Esquema 1 - Aspecto macroscópico dos retângulos de 1 cm² feitos com caneta dermográfica no dorso dos animais, nas áreas onde será aplicado o raio laser e da área controle. Obs este desenho não se encontra em escala.

FIGURA 3 - ASPECTO MACROSCÓPICO DOS RETÂNGULOS

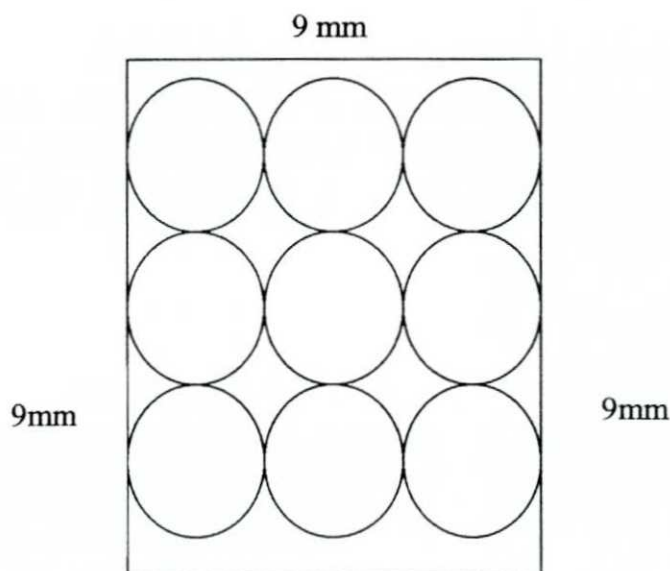


NOTA: Retângulos de 1 cm² feitos com caneta dermográfica no dorso do animal, nas áreas onde será aplicado o raio laser e da área controle

3.5.2 Ferida experimental

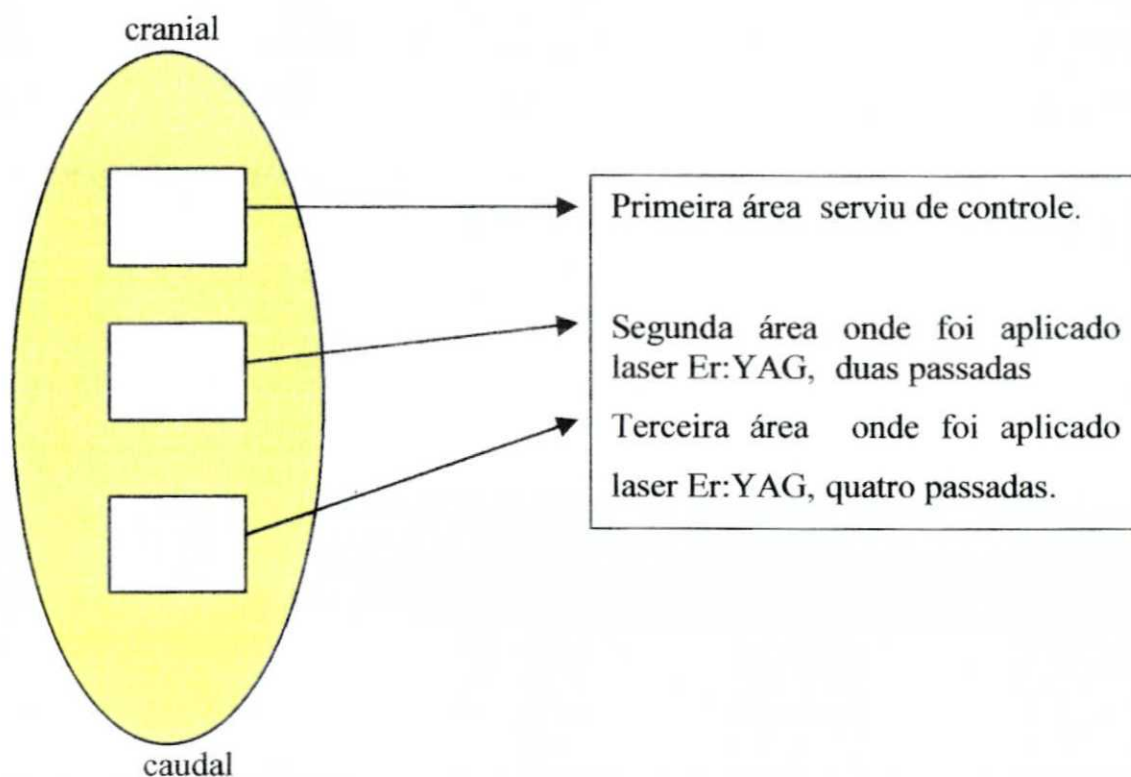
Inicialmente o aparelho de laser *Er :YAG* foi ligado e auto checado. Em seguida o sistema de laser auxiliado pelo *CPG* foi programado para emitir padrões

fixos durante todo o experimento, variando exclusivamente o número de passadas, que foram 2 e 4. Os padrões fixos estabelecidos foram: energia liberada por pulso que foi de 1.7 joules, duração do pulso 350 micro segundos, frequência de 12 Hz (pulsos por segundo) e potência de 20 watts. A caneta utilizada foi específica do *CPG*, foi mantida a uma distância de 20 centímetros da pele em posição perpendicular. O tamanho do *spot* foi de 3mm de diâmetro e com sobreposição de 0%. O formato da figura escolhida foi a retangular de 9 x 9 mm onde couberam em seu interior 9 pulsos em seqüência (Esquema 2).



Esquema 2: Desenho ilustrativo do retângulo de 9x9 mm e a seqüência de 9 disparos do laser Er:YAG em seu interior com grau de 0% de sobreposição. Obs este desenho não se encontra em escala.

Com os animais em decúbito ventral e mantidos sob anestesia, sobre a primeira área selecionada nada foi aplicado e serviu de controle do próprio animal. Sobre a segunda área, foram aplicadas duas passadas do laser de *Er:YAG* sendo que entre uma aplicação e outra houve a remoção do tecido desvitalizado por desbridamento cirúrgico, raspando-se a área da lesão com gaze úmida em soro fisiológico. Para a terceira área selecionada, foram aplicadas quatro passadas do laser de *Er:YAG* repetindo-se o desbridamento cirúrgico entre uma passada e outra. Estes procedimentos foram repetidos para todos os animais (Esquema 3).



Esquema 3 :Demonstração da aplicação do laser no dorso do primeiro animal.
NOTA:Este desenho não se encontra em escala.

3.6 PÓS - OPERATÓRIO

Ao término da criação das lesões através do laser de *Er:YAG*, os animais foram recolocados em suas respectivas gaiolas e retornaram ao biotério do IPEN para colheita do material, identificação e encaminhamento para o estudo histopatológico. A seguir os animais foram sacrificados.

3.7 OBTENÇÃO DAS PEÇAS CIRÚRGICAS E SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

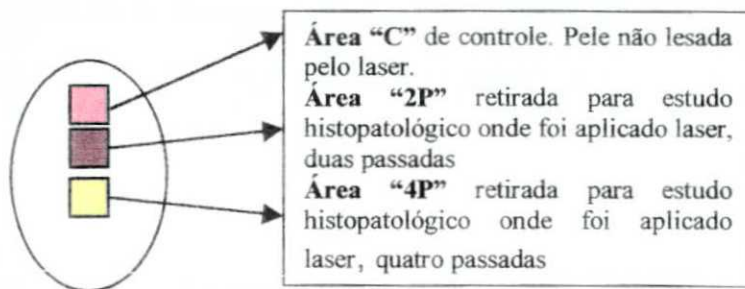
O intervalo de tempo entre uma aplicação do laser Er: YAG, a colheita do material e o sacrifício dos animais não superou 3 horas.

O sacrifício dos animais foi feito logo após a retirada dos fragmentos para estudo histopatológico. Para tanto, os animais receberam uma solução de KCL 19%, injetada intracardiaco na dose de 1,0 ml de solução para cada 100 gramas de peso do animal. Não foram mantidas pérvias as vias aéreas e a morte foi por parada cardíaca.

De cada animal, com o auxílio de uma pinça dente de rato e bisturi de lâmina nº 20, ressecou-se 3 fragmentos de pele em forma de fuso. O primeiro referente a região de controle, o nº 2 da lesão causada por 2 passadas e o 3º da lesão causada por 4 passadas com o laser Er: YAG. Cada lesão foi ressecada com 0.5 cm de margem de segurança de tecido, que não tivesse sido atingido diretamente pela aplicação do laser.

Todos os fragmentos de pele foram retirados até a fáscia muscular do dorso dos animais. Em seguida, cada um destes fragmentos, medindo 2x2cm, foi identificado de acordo com o número do rato a que pertencia (A1, A2 e A3) e a área correspondente, sendo (C) para áreas controle, 2P para 2 passadas de laser e 4P para 4 passadas (Esquema 4).

Os fragmentos de pele foram colocados sobre tiras de papelão recobertas com papel filtro a fim de evitar que as peças sofressem alterações de formato e logo após foram fixados em frascos contendo 100 ml de formalina a 10%.

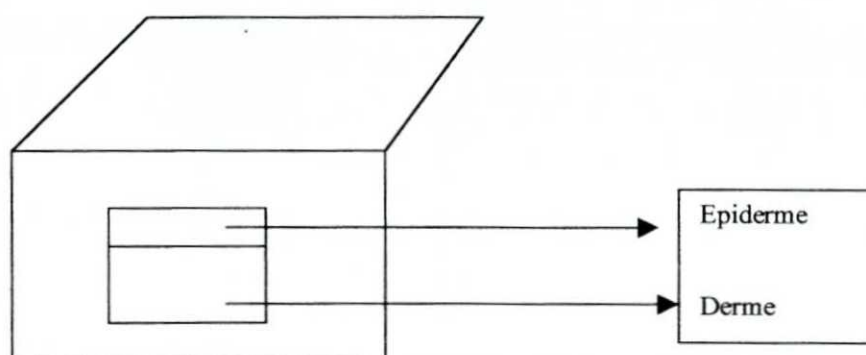


Esquema 4 - Demonstra um exemplo de como as áreas retiradas para o estudo histopatológico eram identificadas.

3.8 PREPARO DO MATERIAL E ESTUDO HISTOPATOLÓGICO

3.8.1 Processamento do material coletado

Após 72 horas de fixação, o material foi retirado da formalina e examinado macroscopicamente. Os fragmentos de pele foram então seccionados ao meio em dois segmentos de 1x 1cm utilizando-se uma lâmina de barbear afiada a fim de evitar artefatos técnicos. Um dos fragmentos foi armazenado novamente em formalina a 10% para estudos futuros, caso necessário. Outro fragmento foi colocado em cápsula para histotécnica e levado ao autotécnico, onde foi desidratado em álcool 70%,80% e 90%, posteriormente diafanizado em xilol e incluído em parafina sólida cuidando-se para que a face dermo-epidérmica do material ficasse voltado para a face de corte do bloco (Esquema 5).



Esquema 5 - Demonstra a forma de inclusão do material com a face dermo-epidérmica do fragmento voltada para a face de corte do bloco.

Obteve-se um total de 9 blocos histológicos, cada um contendo 1 fragmento de pele, sendo que cada rato do experimento apresentava 3 amostras de pele.

3.8.2 Colorações utilizadas

Para cada bloco foram feitas 3 lâminas contendo 4 cortes histológicos. A primeira lâmina foi corada em hematoxilina-eosina, a segunda foi corada para a avaliação de fibras elásticas e a terceira para tricrômico de Gomori que permite a avaliação de fibras colágenas. A identificação de cada bloco e lâmina seguiu os padrões já estabelecidos anteriormente para os frascos com formalina. Com identificação na sua margem esquerda, cada lâmina contém 4 cortes como já explicado, sendo que a primeira lâmina contém os cortes de 1 a 4, a segunda os cortes de 5 a 8 e a terceira os cortes de 9 a 12, contados da esquerda para a direita.

Os cortes foram feitos em micrótomo *AMERICAN OPTICAL*, com 4 micrômetros de espessura, sendo distendidos em lâmina de vidro com 75x25 mm, coradas conforme as técnicas descritas abaixo e montados em bálsamo e lamínula com 24x50 mm.

- Coloração de Hematoxilina-eosina: corando-se com hematoxilina de Harris, lavando-se em água amoniacal e corando-se novamente com eosina.
- Coloração para Fibras Elásticas de Hart: lava-se o corte em permanganato de potássio e em ácido oxálico e cora-se com solução Elástica por 4 horas (diamante fucsina e resorcina). Cora-se com hematoxilina e Solução de Van Gienson.
- Tricrômico de Gomori: cora-se com hematoxilina e solução de Gomori (cromotrope 2R, Fast green, ácido acético e fosfotungstico).

3.8.3 Avaliação histopatológica:

3.8.3.1 Observações morfológicas gerais

As alterações morfológicas microscópicas da pele foram avaliadas com a observação de cada uma das lâminas processadas utilizando-se os seguintes passos: a)

avaliação da epiderme na pele lesada e na pele controle, b) avaliação da derme na pele lesada e na pele controle. Os resultados foram registrados na forma de fotomicrografias retiradas em microscópio trinocular Olympus BH-2 acoplado a câmera Olympus C-35 DA2.

3.8.3.2 Morfometria

A leitura da morfometria foi realizada na coloração de hematoxilina – eosina a fim de determinar a extensão das lesões, o dano de ablação e o dano térmico residual, causados pelo laser de Er:YAG. A leitura das lâminas foi feita através de microscópio binocular Olympus BH-2, com grátícula F10 (20,4 nm) (Tabela 1).

TABELA 1 - AFERIÇÃO DA GRATÍCULA UTILIZADA NA REALIZAÇÃO DAS MEDIDAS MORFOMÉTRICAS

OBJETIVA	AUMENTO	MEDIDA
4	40X	140 μm
10	100X	56 μm
40	400X	14 μm

Os seguintes parâmetros morfométricos, todos medidos em micrômetros, foram avaliados:

Extensão das áreas de pele lesada pelo laser Erbium (ext. les.) nos 3 animais (A1, A2 e A3), nas amostras com 2 (2P) e 4 passadas (4P).

Extensão dos intervalos de pele não lesada nas áreas onde foi aplicado o laser Erbium (ext. n-les.) nos 3 animais (A1, A2 e A3), nas amostras com 2 (2P) e 4 passadas (4P).

Espessura da pele controle (esp. cont.) nos 3 animais (A1, A2 e A3).

Espessura da pele nas áreas lesadas pelo laser Erbium (esp. les.) nos 3 animais (A1, A2 e A3), nas amostras com 2 (2P) e 4 passadas (4P).

Profundidade do danos de ablação (d. ablaç.) definido pela fórmula: esp. cont – esp. les. Este item foi avaliado nos 3 animais (A1, A2 e A3), nas amostras com 2 (2P) e 4

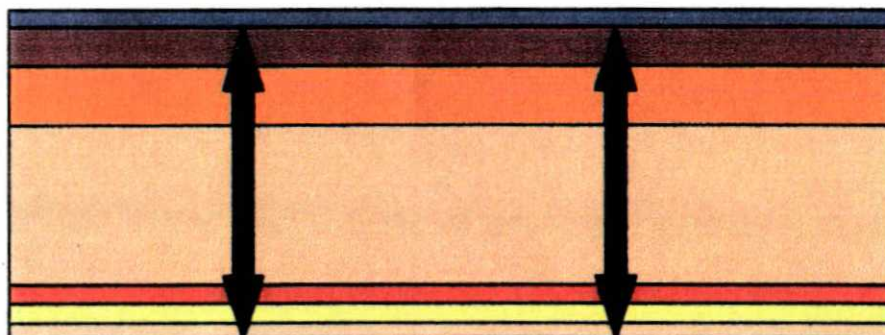
passadas (4P).

Dano térmico residual (d.t.r.) definido pela área de colágeno que é lesado pelo laser Erbium presente na derme superficial nos 3 animais (A1, A2 e A3), nas amostras com 2 (2P) e 4 passadas (4P).

Para se avaliar a extensão e a espessura da pele nas áreas lesadas e nas áreas não lesadas ou áreas controle, foram utilizados os seguintes critérios morfométricos:

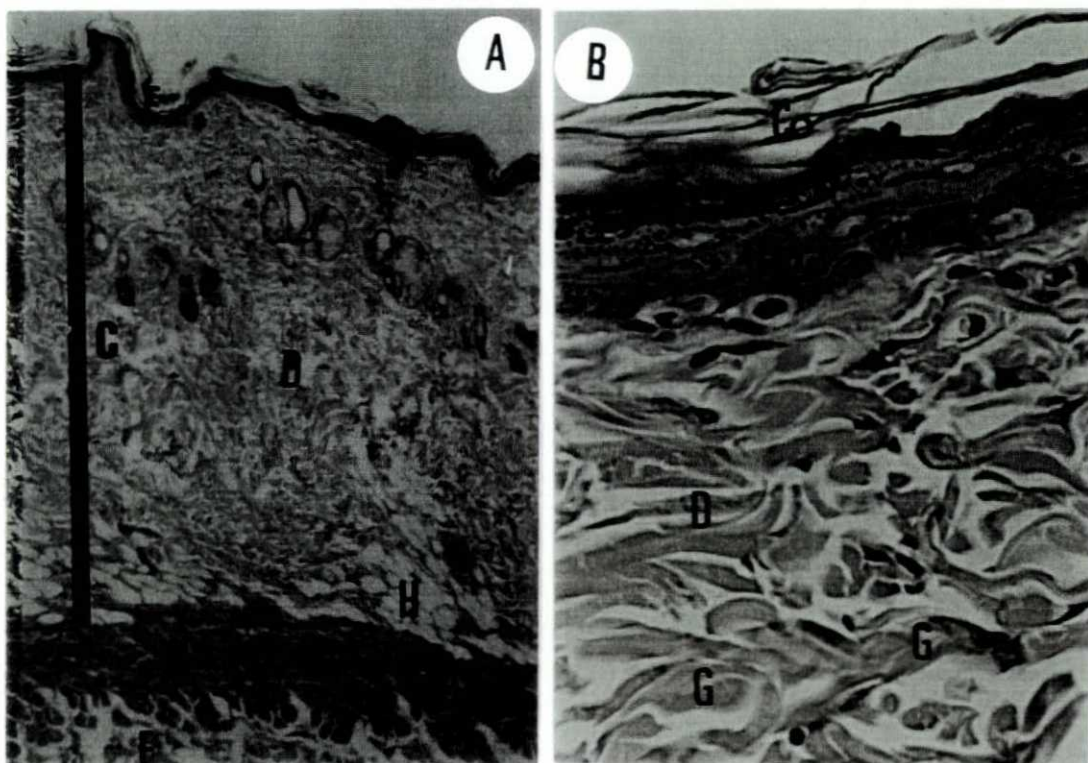
Medida da extensão de pele lesada (ext. les.) e extensão dos intervalos de pele não lesada (ext. n-les.): feita com objetiva de 4, com aumento de 40X, onde cada quadrado da gráticula vale 140 μm (vide tabela 2). Foram medidas todas as extensões de pele lesada e não lesada nos 4 cortes corados por hematoxilina-eosina de cada fragmento estudado (Esquema 7).

Método de medida da profundidade do dano de ablação (d. ablaç): mede-se a distância da camada granulosa da epiderme até a transição da hipoderme com o músculo estriado esquelético na área controle (esp. cont.) e subtrai-se da distância da porção superficial da pele lesada até a transição da hipoderme com o músculo estriado esquelético (esp. les.) (Esquema 7). Foram excluídas as medidas em que se encontrou artefatos técnicos ou próximo a folículos pilosos. As medidas foram realizadas somente nos cortes corados em hematoxilina-eosina, isto é, somente nos 4 primeiros cortes de cada área. Para esta medida foi utilizada objetiva de 4, com aumento de 40X, onde cada quadrado da gráticula vale 140 μm (Tabela 1). Foram realizadas 20 medidas para cada área controle, sendo que estas medidas foram distribuídas da seguinte maneira: 5 medidas em cada corte em um total de 4 cortes. Nas áreas lesadas a espessura da pele foi medida tantas vezes quanto o número de áreas com lesão tenham sido encontradas naquele corte (Esquema 7).



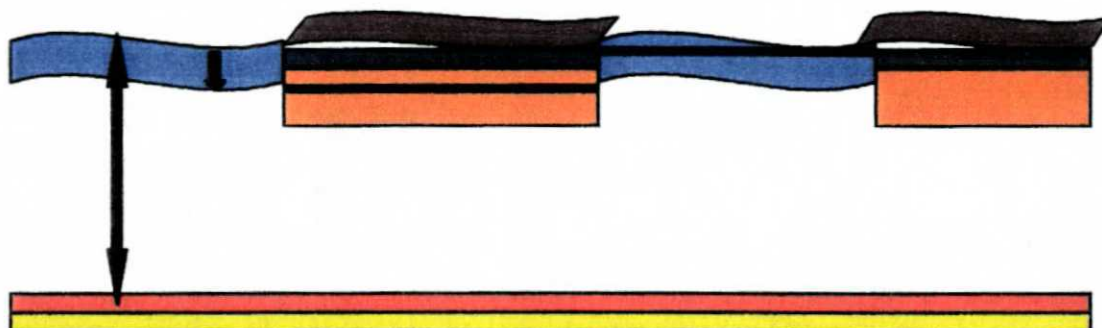
Esquema 6_ Demonstra um corte histológico de pele controle com a camada córnea da epiderme corada em violeta, a camada granulosa em azul, a camada intermediária e basal em laranja, a derme e hipoderme em bege, a camada muscular estriada em vermelho e a fâscia dorsal em amarelo. A seta indica como foi feita a medida de espessura da pele controle (C) medindo-se a distância da camada granulosa da epiderme até a transição da hipoderme com o músculo estriado esquelético. Vide fotomicrografia 2.

FIGURA 4 - ASPECTOS MICROSCÓPICOS DA PELE CONTROLE



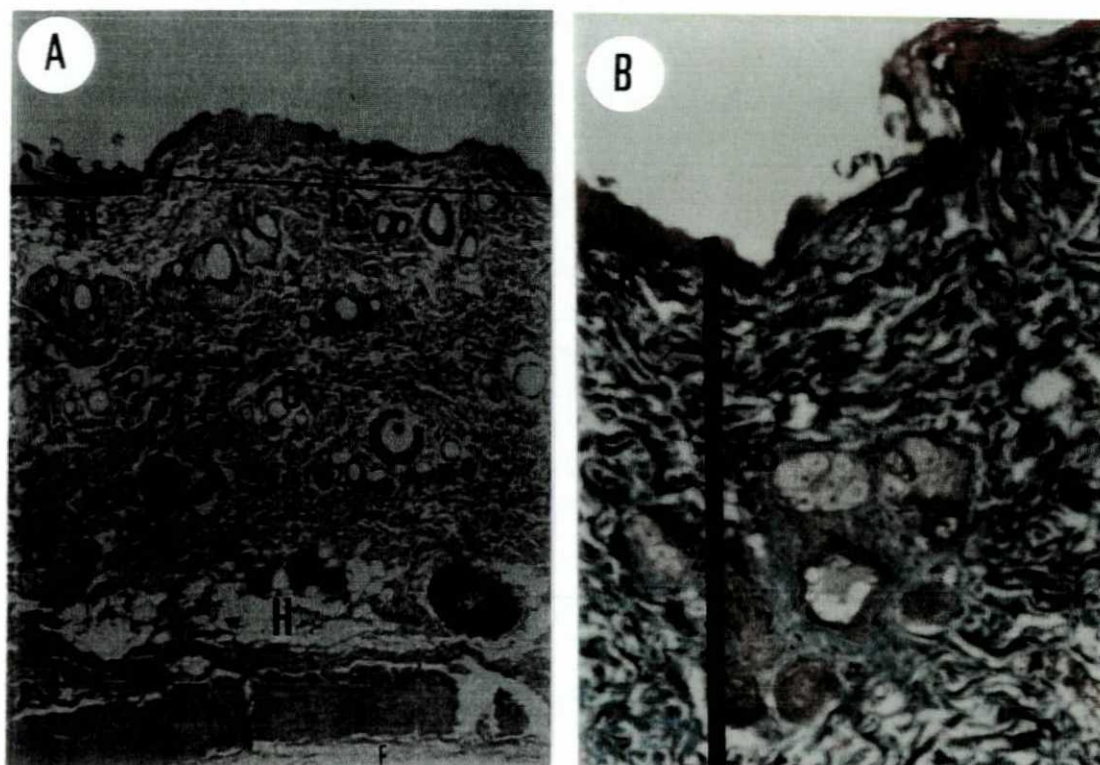
NOTA: Em "A" observa-se epiderme (E), derme (D), hipoderme (H), músculo estriado (M) e fâscia dorsal (F). A faixa preta indica como foi feita a medida de espessura da pele controle (C) medindo-se a distância da camada granulosa da epiderme até a transição da hipoderme com o músculo estriado esquelético.

Em "B" observa-se detalhe da epiderme e da derme representadas na fotomicrografia "A". A camada córnea (Co), a camada granulosa (cabeça de seta preta), camada intermediária e basal (I) e a derme (D) com suas fibras colágenas (G) estão representadas neste corte histológico da pele controle (C) corado pela hematoxilina-eosina (HE). A = HE 40x e B = HE200x.



Esquema 7 – Demonstra a pele lesada pelo laser Erbium (2 ou 4 passadas) com as áreas lesadas em azul claro, a camada córnea dos intervalos de pele não lesada em roxo, a camada granulosa em azul escuro e a camada intermediária e basal em laranja. A derme aparece representada em branco, o músculo esquelético em vermelho e a fáscia dorsal em amarelo. A medida do dano térmico residual está representada pela seta pequena preta e a medida da espessura da pele lesada está representada pela seta dupla preta, a medida da extensão da pele lesada está representada pela faixa preta “2” e a medida da extensão dos intervalos de pele não lesada está representada pela faixa preta “1”. (Fotomicrografia 3)

FIGURA 5 - ASPECTOS MICROSCÓPICOS DA EXTENSÃO DA ÁREA LESADA E DANO TÉRMICO RESIDUAL.



NOTA: A Corte histológico corado pela HE que demonstra pele lesada pelo laser Erbium (2 passadas) com a extensão de área lesada representada pela faixa preta (L) e de área não lesada pela faixa preta (NL),

B = Corte histológico corado pelo tricrômico de Gomori que demonstra pele lesada pelo laser Erbium (2 passadas) onde a medida do dano térmico residual está representada pela faixa pequena preta (R) e a medida da espessura da pele lesada está representada pela faixa preta (Ab), A e B = A epiderme da área não lesada está representada em ambas as fotomicrografias pela letra E, assim como a derme (D), a hipoderme (H) o músculo esquelético (M) e a fáscia (F). A = 40x e B = 100x

Medida do dano térmico residual (d.t.r): foi calculada medindo-se a distância da porção mais superficial da pele ablada até a última fibra colágena com degeneração basofílica. As medidas foram realizadas somente nos cortes corados com hematoxilina-eosina, isto é, somente nos 4 primeiros cortes de cada área. Para esta medida foi utilizada objetiva de 40, com aumento de 400x, onde cada quadrado da gráticula vale 14 μ m (Tabela 2). Nas áreas lesadas o dano térmico residual foi medido tantas vezes quanto o número de áreas com lesão tenham sido encontradas naquele corte (Esquema 7).

3.9 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS MORFOMÉTRICOS:

Para análise dos dados, considerou-se um modelo de análise de variância hierárquico, dada a estrutura do experimento. Desta forma, considerou-se o nível mais alto, hierarquicamente, como sendo o animal (nível hierárquico 1 – NV1). O segundo nível hierárquico foi o número de passadas (2P e 4P) dentro do animal (NV2). Por último, os níveis de corte histológico dentro de cada passada (2P e 4P) dentro do animal (NV3) e o número de medidas morfométricas tomadas em cada corte histológico (NV4). Vale lembrar que as medidas morfométricas foram realizadas somente nos cortes corados em hematoxilina-eosina, em um total de 4 para cada área (2P e 4P) para cada animal e que foram realizadas tantas medidas quantas áreas lesadas fossem encontradas em cada corte, sendo este último número, portanto, variável.

Para cada uma das variáveis de interesse, testou-se a hipótese nula de medidas iguais para duas e quatro passadas, versus a hipótese alternativa de médias diferentes ou seja:

1. A extensão média das áreas lesadas (ext. les.) para 2 passadas é igual a extensão média das áreas lesadas (ext. les.) para 4 passadas versus a hipótese alternativa de

extensões (ext. les.) médias diferentes.

2. A extensão média dos intervalos de pele não lesada (ext. n-les.) para 2 passadas é igual à extensão média dos intervalos de pele não lesada (ext. n-les.) para 4 passadas, versus a hipótese alternativa de ext. n-les. médias diferentes.

3. A profundidade média do dano de ablação (d. ablaç.) para 2 passadas é igual à profundidade média do dano de ablação (d. ablaç.) para 4 passadas, versus a hipótese alternativa de d. ablaç. médios diferentes.

4. A profundidade do dano térmico residual (d.t.r.) médio para 2 passadas é igual à profundidade do d.t.r. médio para 4 passadas, versus a hipótese alternativa de d.t.r. médios diferentes.

O nível de significância considerado foi de 5% e os intervalos foram construídos com 95% de confiança.

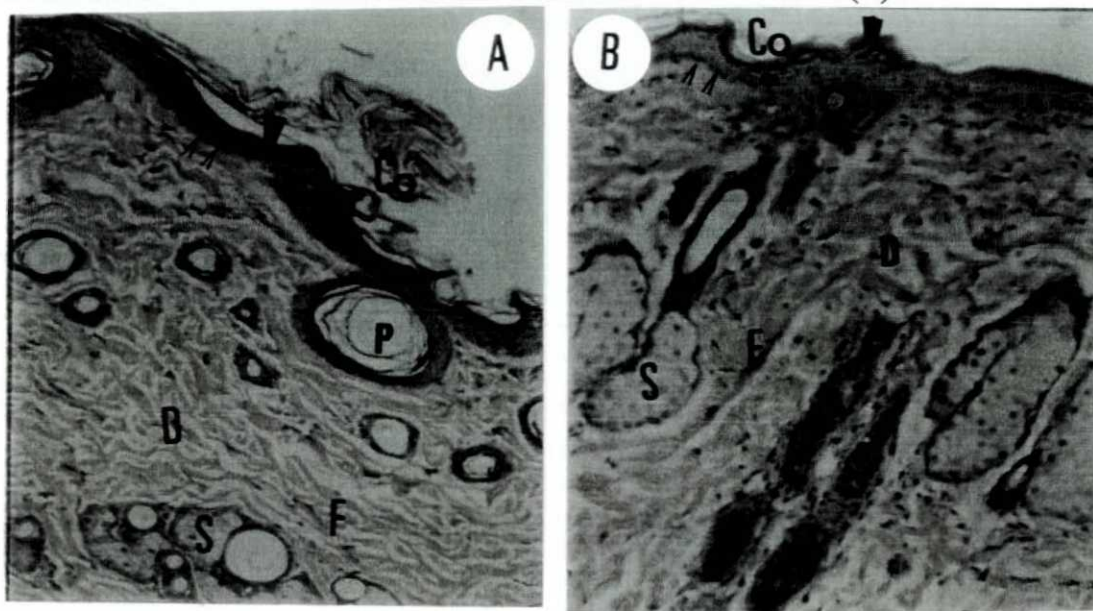
4 RESULTADOS

4.1 RESULTADOS MORFOLÓGICOS

4.1.1 Aspectos histológicos da pele controle (c)

Nos animais de observação 01, 02 e 03, no corte histológico da pele controle corados em H.E., com aumento de 100x, foram observadas as seguintes camadas: a epiderme, apresentando a camada córnea, a camada granulosa, a camada intermediária e a camada basal. A derme continha anexos representados por folículos pilosos e glândulas sebáceas, além de abundante quantidade de colágeno de coloração eosinofílica, padrão normal.

FIGURA 6 - CORTE HISTOLÓGICO DA PELE CONTROLE (C)

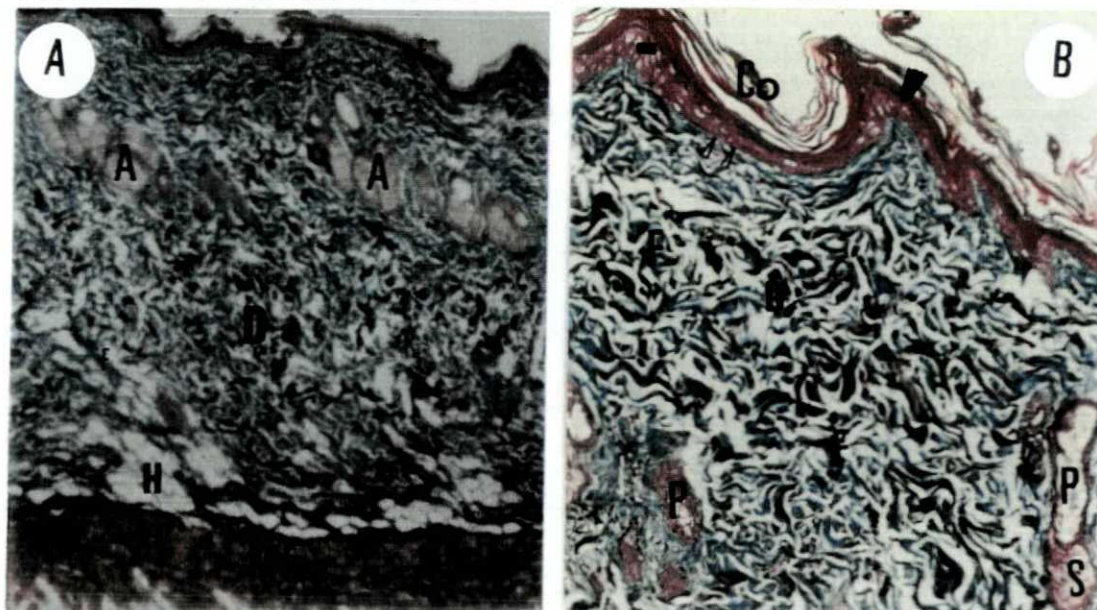


NOTA:

Camada córnea (Co), camada granulosa (cabeça de seta), camada intermediária (♦) e a camada basal (dupla cabeça de seta). Derme (D). Folículos pilosos (P), glândulas sebáceas (S) e colágeno (F). (M. O. , coloração H.E., aumento 100x)

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos da pele controle corados com o tricrômico de Gomori, observou-se com o aumento de 40x as seguintes camadas: a epiderme, a derme contendo anexos e fibras colágenas coradas em verde. A seguir observou-se a hipoderme e o músculo estriado esquelético que aparece corado em vermelho vivo. Com o aumento de 100x, o corte histológico da pele controle dos animais 01, 02 e 03 com o tricrômico de Gomori observou-se a epiderme apresentando a camada córnea, a camada granulosa, a camada intermediária e a camada basal. Pode-se observar, também, a derme contendo anexos, representados por folículos pilosos e glândulas sebáceas, além de abundante quantidade de fibras colágenas coradas em verde.

FIGURA 7 - CORTE HISTOLÓGICO DA PELE CONTROLE



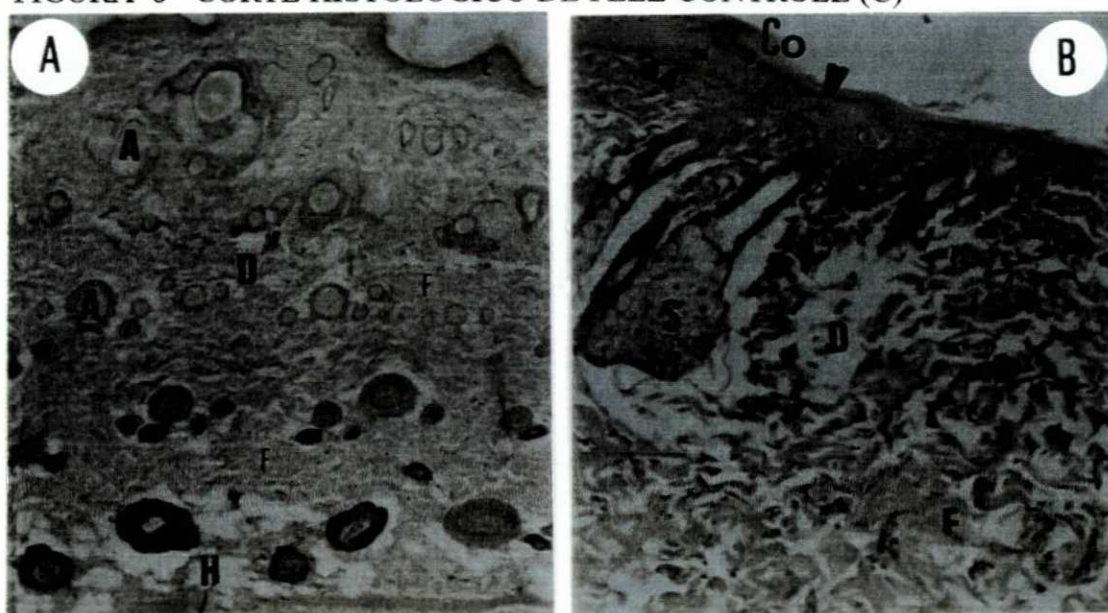
NOTA: A = corte histológico da pele controle (C), epiderme (E), derme (D), anexos (A), fibras colágenas (F), hipoderme (H) e o músculo estriado esquelético (M).

B = Corte histológico da pele controle (C), epiderme e a camada córnea (Co), camada granulosa (cabeça de seta), camada intermediária (■) e a camada basal (dupla cabeça de seta), derme (D), folículos pilosos (P) e glândulas sebáceas (S), além de abundante quantidade de fibras colágenas coradas em verde (F). (M.O., coloração em tricrômico de Gomori, aumento de 40x em A e de 100x em B).

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos das peles controle corados com coloração para fibras elásticas de Hart, observou-se em aumento de 40x, a epiderme, a derme contendo anexos e fibras coradas em marrom claro e a hipoderme. As fibras elásticas não foram observadas neste aumento. Com o aumento de 100x, nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicas da pele controle corados com coloração para fibras elásticas de Hart, observou-se a epiderme apresentando a camada córnea, com a camada granulosa corada em preto. Ainda, as camadas intermediária e camada basal foram observadas.

A derme continha anexos representados por glândulas sebáceas e abundante quantidade de fibras colágenas coradas em marrom claro. As fibras elásticas aparecem como pequenos filamentos corados em preto em meio as fibras colágenas.

FIGURA 8 - CORTE HISTOLÓGICO DE PELE CONTROLE (C)



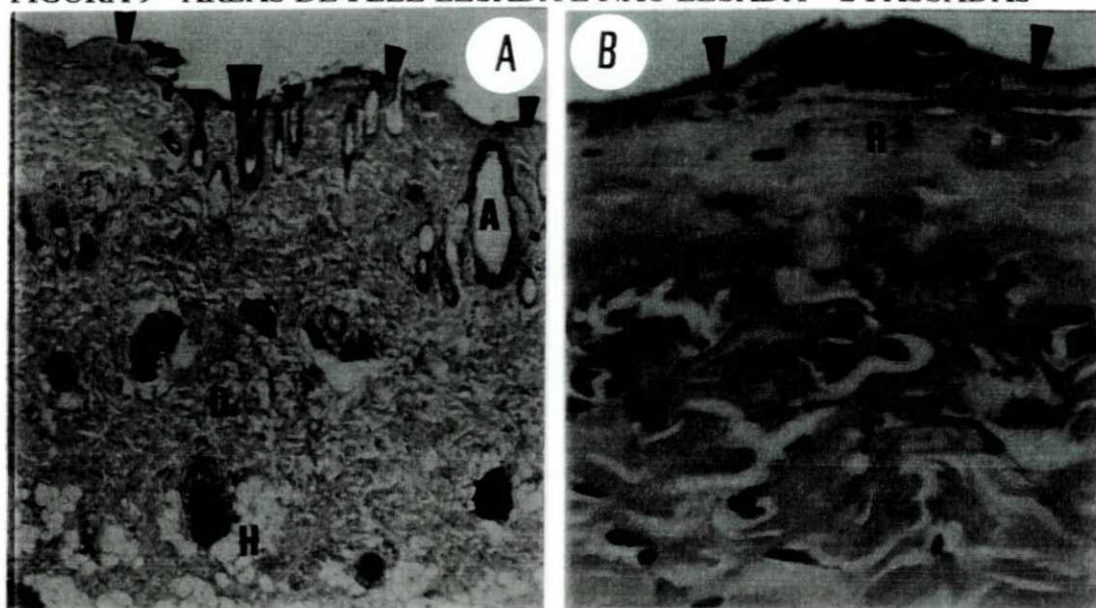
NOTA: A = Corte histológico da pele controle (C), derme (D), anexos (A), fibras colágenas (F) e hipoderme (H).

B = Corte histológico da pele controle (C), camada córnea (Co), camada granulosa corada em preto (cabeça de seta), camada intermediária (♦), camada basal (dupla cabeça de seta). Derme (D), glândulas sebáceas (S), fibras colágenas (F), fibras elásticas (contorno de cabeça de seta). (M.O. , coloração para fibra elástica de Hart, aumento de 40x em A e de 100x em B).

4.1.2 Aspectos histopatológicos de pele lesada com laser *Erbium: YAG*, 2 passadas

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos das peles lesadas com 2 passadas pelo *laser Erbium:YAG* e corados com coloração de H.E. , observou-se em aumento de 40x, áreas de pele não lesada e áreas de pele lesada. Observou-se ainda, a derme, os anexos e a hipoderme. Nos animais de observação 01,02 e 03, nos cortes histológicos das peles lesadas com 2 passadas pelo laser de *Erbium:YAG*, com aumento de 400x e corados com a H.E., observou-se áreas de pele lesada e o dano térmico residual representado pela lesão das fibras colágenas da derme superficial que se apresentam homogeneizadas e com perda da afinidade tintorial. As fibras elásticas não são visualizadas nesta coloração.

FIGURA 9 - ÁREAS DE PELE LESADA E NÃO LESADA – 2 PASSADAS

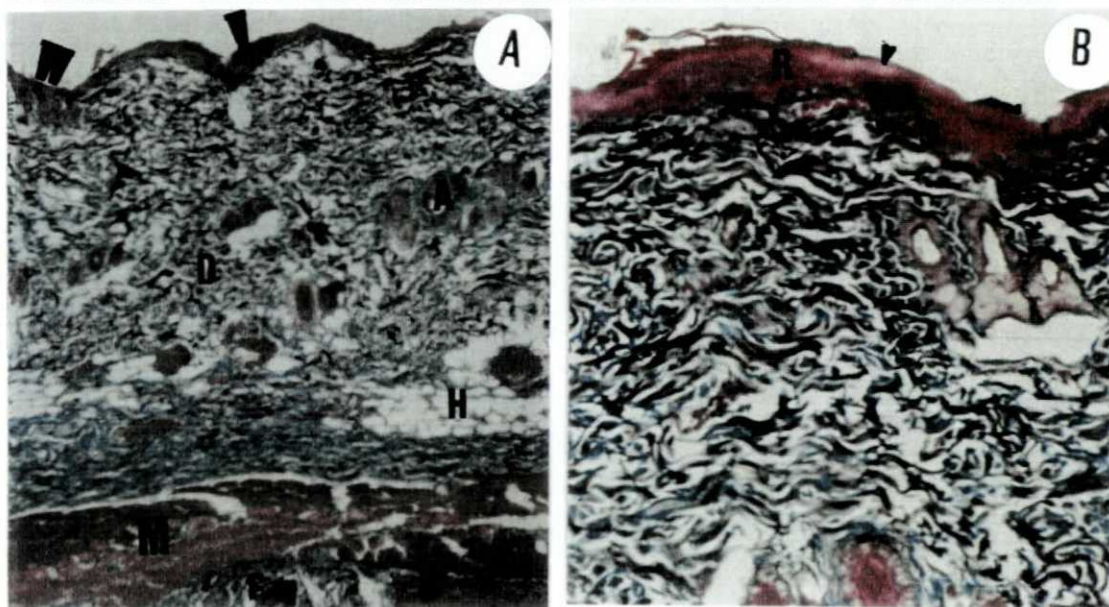


NOTA: A = Corte de pele submetida a 2 passadas de laser *Erbium:YAG*, áreas de pele não lesada (cabeça dupla de seta) e áreas de pele lesada (cabeça de seta única). Derme (D), anexos (A) e hipoderme (H).

B = Corte de pele submetida a 2 passadas de laser *Erbium:YAG*. Área de pele lesada (cabeça de seta), detalhe da fotomicrografia 7 A em 7 B. Dano térmico residual (R). (M.O. , coloração H.E. , aumento de 40x em A e de 400x em B).

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos da pele com aplicação de 2 passadas pelo laser de *Erbium:YAG*, corados com o tricrômico de Gomori observou-se, com o aumento de 40x, áreas de pele não lesada e áreas de pele lesada. Observou-se ainda a derme com fibras colágenas evidenciadas por esta coloração, em cor verde e anexos. A hipoderme. O músculo estriado esquelético aparece em coloração vermelha e a fâscia colágena corada em verde. Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos da pele com aplicação de 2 passadas pelo laser de *Erbium:YAG*, corados com o tricrômico de Gomori, observou-se, com o aumento de 100x, área de pele lesada. No detalhe da fotomicrografia 10A, pode-se ver o dano residual representado pela lesão das fibras colágenas da derme superficial que se apresentam homogeneizadas e com perda de afinidade tintorial, uma vez que deixam de se corar em verde e passam a se corar em vermelho. As fibras elásticas não são visualizadas nesta coloração.

FIGURA 10 - ÁREAS DE PELE LESADA E NÃO LESADA – 2 PASSADAS

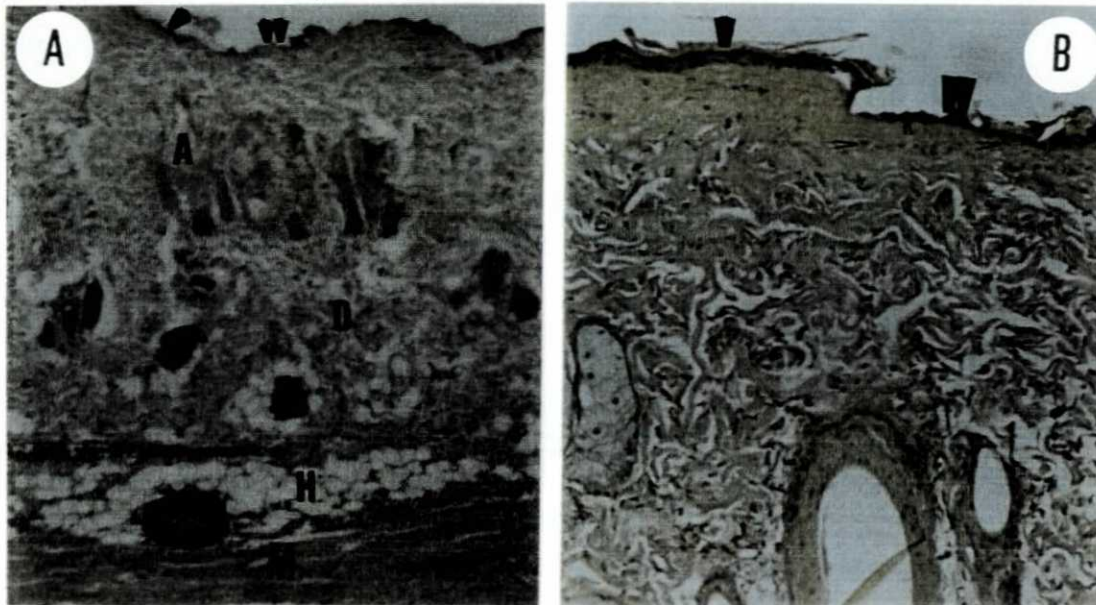


NOTA: A = Corte de pele submetida a 2 passadas de laser *Erbium:YAG*. Áreas de pele não lesada (cabeça dupla de seta), áreas de pele lesada (cabeça de seta). Derme (D), fibras colágenas (em verde), anexos (A), hipoderme (H), músculo estriado esquelético (M) e fâscia colágena (F).

B = Corte de pele submetida a 2 passadas de laser *Erbium:YAG*, corada com tricrômico de Gomori. Área de pele lesada (cabeça de seta), dano térmico residual (R). (M.O., coloração em tricrômico de Gomori, aumento de 40x em A e de 100x em B).

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos das peles submetidas a 2 passadas de *laser Erbium:YAG*, corados com coloração para fibras elásticas de Hart observou-se, em aumento de 40x, áreas de pele não lesada e áreas de pele lesada. Observou-se ainda a derme, os anexos, a hipoderme e músculo estriado esquelético. Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos das peles submetidas a 2 passadas de *laser Erbium:YAG*, corados com coloração para fibras elásticas de Hart, observou-se com aumento de 100x, áreas de pele não lesada e áreas de pele lesada. No detalhe da fotomicrografia 11 A, em 11 B pode-se ver o dano térmico residual representado pela lesão de fibras colágenas da derme superficial que se apresentam homogeneizadas e com perda da afinidade tintorial além de lesão das fibras elásticas coradas em preto.

FIGURA 11- ÁREAS DE PELE LESADA E NÃO LESADA – 2 PASSADAS

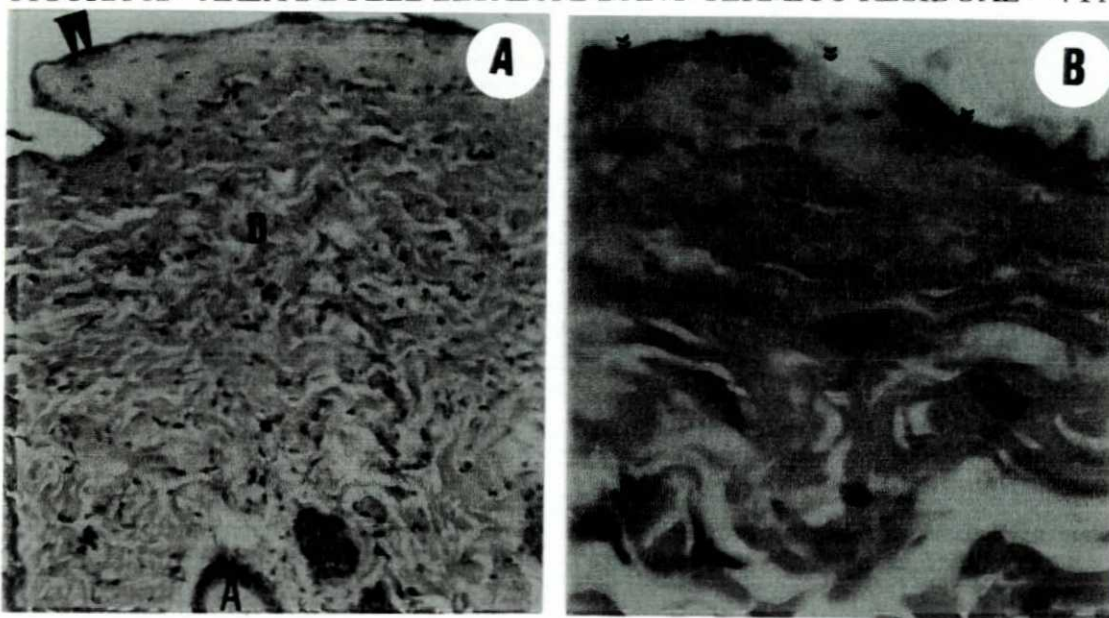


NOTA: A = Corte de pele submetida a 2 passadas de *laser Erbium:YAG*. Áreas de pele não lesada (cabeça de seta), áreas de pele lesada (cabeça dupla de seta). Derme (D), anexos (A), hipoderme (H) e músculo estriado esquelético (M).
 B = Corte de pele submetida a 2 passadas de *laser Erbium:YAG*. Áreas de pele não lesada (cabeça de seta), áreas de pele lesada (cabeça dupla de seta). Dano térmico residual (R). Fibras elásticas (contorno de cabeça de seta). (M.O. , coloração para fibra elástica de Hart, aumento de 40x em A e de 100x em B).

4.1.3 Aspectos histopatológicos de pele lesada com laser Erbium: YAG com 4 passadas:

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos das peles lesadas com 4 passadas pelo laser *Erbium:YAG* e corados com coloração de H.E., com aumento de 40x, observou-se extensa área de pele lesada e ainda a derme com seus anexos. Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos das peles lesadas com 4 passadas pelo laser *Erbium:YAG* e corados com coloração de H.E., com aumento de 400x, observou-se área de pele lesada. No detalhe da fotomicrografia 12 A visto em 12B, pode-se ver o dano térmico residual representado pela lesão de fibras colágenas da derme superficial que se apresentam homogeneizadas e com perda da afinidade tintorial. As fibras elásticas não são visualizadas nesta coloração.

FIGURA 12 - ÁREA DE PELE LESADA E DANO TÉRMICO RESIDUAL – 4 PASSADAS



NOTA: A = Corte de pele submetida a 4 passadas de laser *Erbium:YAG*. Área de pele lesada (cabeça dupla de seta). Derme (D). Anexos (A).

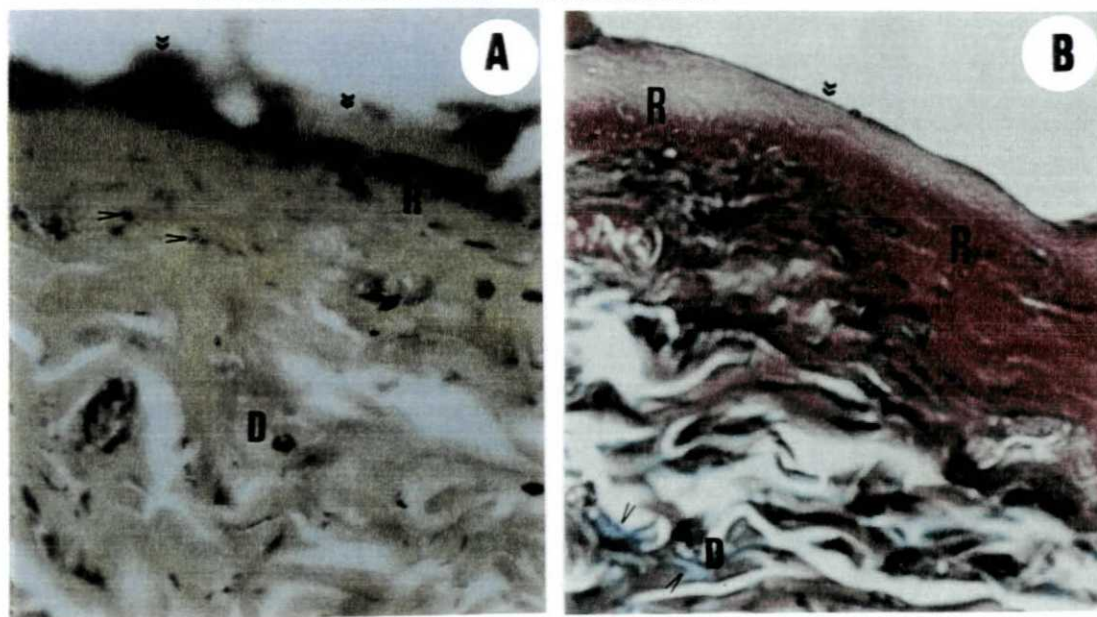
B = Corte de pele submetida a 4 passadas de laser *Erbium:YAG*. Área de pele lesada (cabeça dupla de seta). Dano térmico residual (R). As fibras elásticas não são visualizadas nesta coloração. (M.O., coloração H.E., aumento de 40x em A e de 400x em B).

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos da pele com aplicação de 4 passadas pelo laser de *Erbium:YAG*, corados com coloração para fibras

elástica de Hart, (fotomicrografia 13 A) com o aumento de 400x, observou-se área de pele lesada. Observou-se ainda a derme e área de dano térmico residual representadas pela lesão de fibras colágenas da derme superficial que se apresentam homogeneizadas e com perda da afinidade tintorial. As fibras elásticas são bem visualizadas nesta coloração coradas em preto e encontram fragmentadas com perda da afinidade tintorial.

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos da pele com aplicação de 4 passadas pelo laser de *Erbium:YAG*, corados em tricrômico de Gomori, (fotomicrografia 13 B) com aumento de 400x, observou-se área de pele lesada. Pode-se ver o dano térmico residual representado pela lesão de fibras colágenas da derme superficial que se apresentam homogeneizadas e com perda da sua afinidade tintorial, uma vez que na derme profunda não lesada elas se coram em verde e na área lesada da derme superficial elas se coram em vermelho. As fibras elásticas não são visualizadas nesta coloração.

FIGURA 13 - ÁREA DE PELE LESADA, DANO TÉRMICO RESIDUAL, FIBRAS ELÁSTICAS – 4 PASSADAS



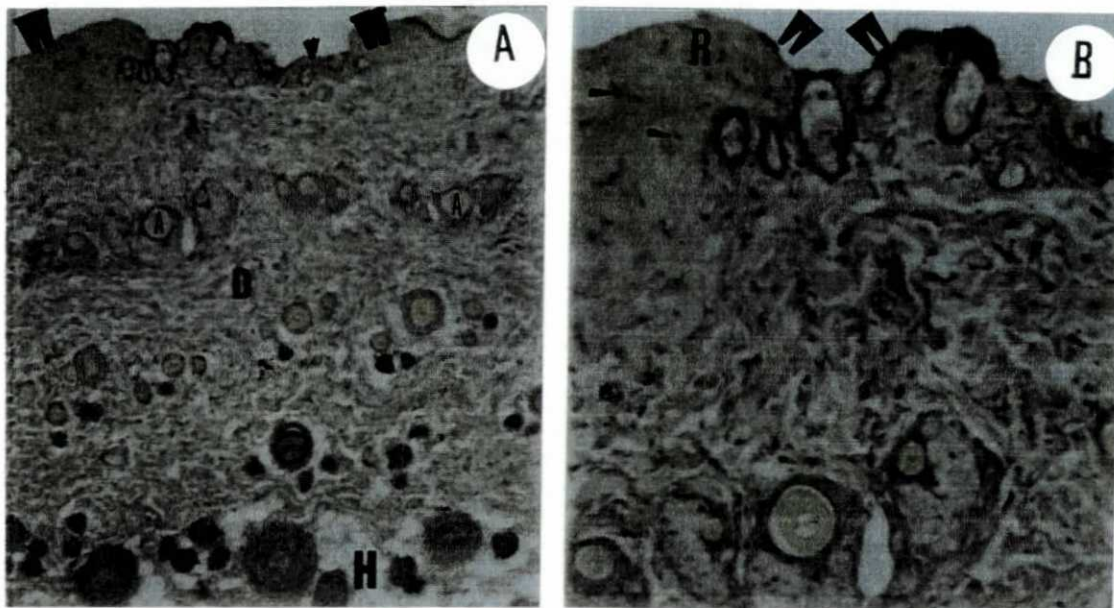
NOTA: A = Corte de pele submetida a 4 passadas de laser *Erbium:YAG* e corada com coloração para fibra elástica de Hart. Área de pele lesada (cabeça dupla de seta). Derme (D), área de dano térmico residual (R). Fibras elásticas (cabeça de seta).

B = Corte de pele submetida a 4 passadas de laser *Erbium:YAG* e corada em tricrômico de Gomori. Área de pele lesada (cabeça dupla de seta). Dano térmico residual (R). Derme profunda não lesada (D), fibras colágenas íntegras (v). As fibras elásticas não são visualizadas nesta coloração. (M.O., coloração Hart em A e tricrômico de Gomori em B. A e B com aumento de 400x).

Nos animais de observação 01, 02 e 03, nos cortes histológicos das peles submetidas a 4 passadas de laser *Erbium:YAG*, corados com coloração para fibras elásticas de Hart, observou-se em aumento de 40x, áreas de pele não lesada e áreas de pele lesada e ainda a derme, anexos e hipoderme.

Nos animais de observação 01,02 e 03, nos cortes histológicos das peles submetidas a 4 passadas de laser *Erbium:YAG*, corados com coloração para fibras elásticas de Hart, observou-se, em aumento de 100x, áreas de pele lesada. No detalhe da fotomicrografia 14 A visto em 14 B, pode-se ver o dano térmico residual representado pela lesão de fibras colágenas da derme superficial que se apresentam homogeneizadas e com perda da afinidade tintorial. As fibras elásticas são bem visualizadas nesta coloração coradas em preto e se encontram fragmentadas com perda da afinidade tintorial.

FIGURA 14 - ÁREAS DE PELE NÃO LESADAS, LESADAS E DANO TÉRMICO RESIDUAL



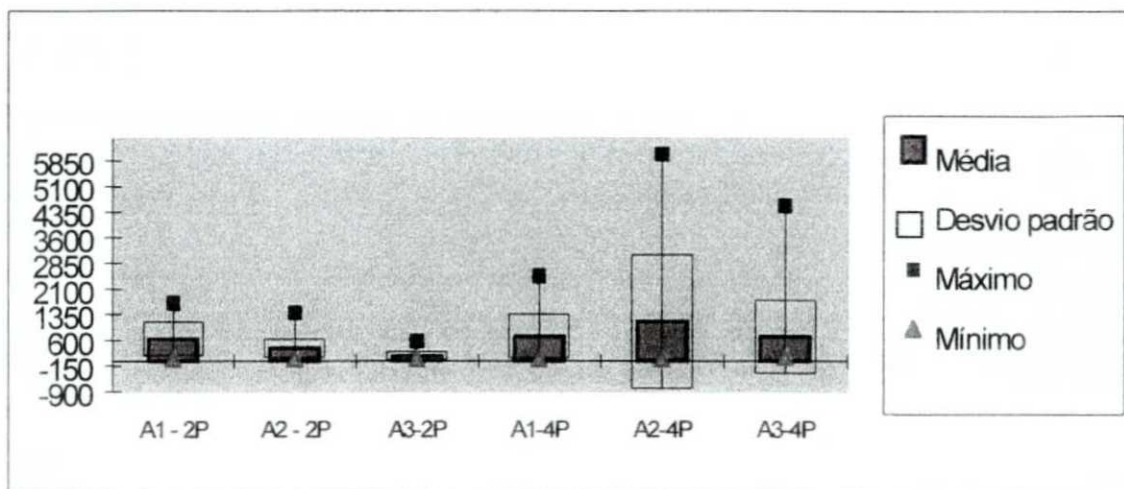
NOTA: A = Corte de pele submetida a 4 passadas de laser *Erbium:YAG*, corada com coloração para fibras elástica de Hart. Áreas de pele não lesada (cabeça de seta). Áreas de pele lesada (cabeça dupla de seta). Derme (D). Anexos (A) e hipoderme (H).

B = Corte de pele submetida a 4 passadas de laser *Erbium:YAG*, corada com coloração para fibras elásticas de Hart. Área de pele lesada (cabeça dupla de seta). Dano térmico residual (R). Fibras elásticas em preto (cabeça de seta). (M.O., coloração para fibra elástica de Hart, aumento de 40x em A e de 100x em B).

4.2 RESULTADOS MORFOMÉTRICOS EM MICRÔMETROS

Os valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão dos resultados morfométricos da extensão das áreas lesadas com 2 e 4 passadas pelo laser de *Erbium:YAG* nos animais 01,02 e 03, foram: para 2 passadas, no animal 01, o valor médio foi 640 μm , valor máximo 1680 μm , valor mínimo de 56 μm e o desvio padrão foi de 486,74 μm . No animal 02, o valor médio foi 366,9 μm , valor máximo 1400 μm , valor mínimo de 56 μm e o desvio padrão foi de 277,37 μm . No animal 03, o valor médio foi 138,21 μm , valor máximo 560 μm , valor mínimo de 56 μm e o desvio padrão foi de 177,26 μm . Para 4 passadas, no animal 01, o valor médio foi 715,56 μm , valor máximo 2464 μm , valor mínimo de 56 μm e o desvio padrão foi de 648,81 μm . No animal 02, o valor médio foi 1138,67 μm , valor máximo 6048 μm , valor mínimo de 56 μm e o desvio padrão foi de 1958,91 μm . No animal 03, o valor médio foi 700,85 μm , valor máximo 4536 μm , valor mínimo de 112 μm e o desvio padrão foi de 1083,36 μm . (Gráfico 1).

GRÁFICO 1 - VALORES DE EXTENSÃO DAS ÁREAS LESADAS PELO LASER *ERBIUM:YAG*



FONTE: Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

NOTA: p= Desvio padrão.

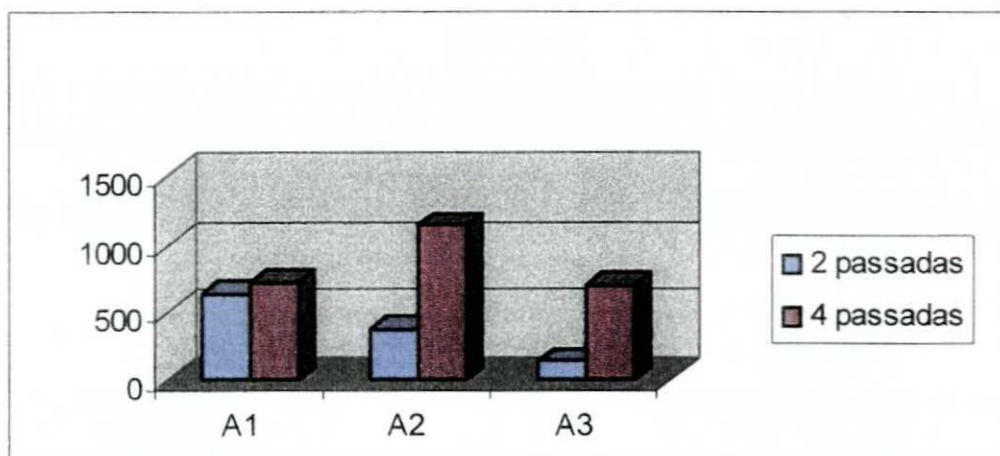
p= 486,74 e 648,81 (animal 01 para 2 e 4 passadas)

p= 277,37 e 1958,91 (animal 02 para 2 e 4 passadas)

p= 117,26 e 1083,36 (animal 03 para 2 e 4 passadas)

Comparando-se os valores médios da extensão das áreas lesadas pelo laser de *Erbium:YAG* com 2 (2P) e quatro passadas (4P), houve maior extensão de área lesada com 4 passadas do que em 2 passadas. Sendo os valores médios para 4 passadas foram de 715,56 μ m; 1138,67 μ m e 700,85 μ m para os animais 01, 02 e 03 respectivamente. E os valores médios para 2 passadas foram de 640 μ m; 366,9 μ m e 138,21 μ m para os animais 01, 02 e 03 respectivamente.

GRÁFICO 2 - COMPARAÇÃO DOS VALORES MÉDIOS DA EXTENSÃO DAS ÁREAS LESADAS PELO LASER DE ERBIUM : YAG COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS.

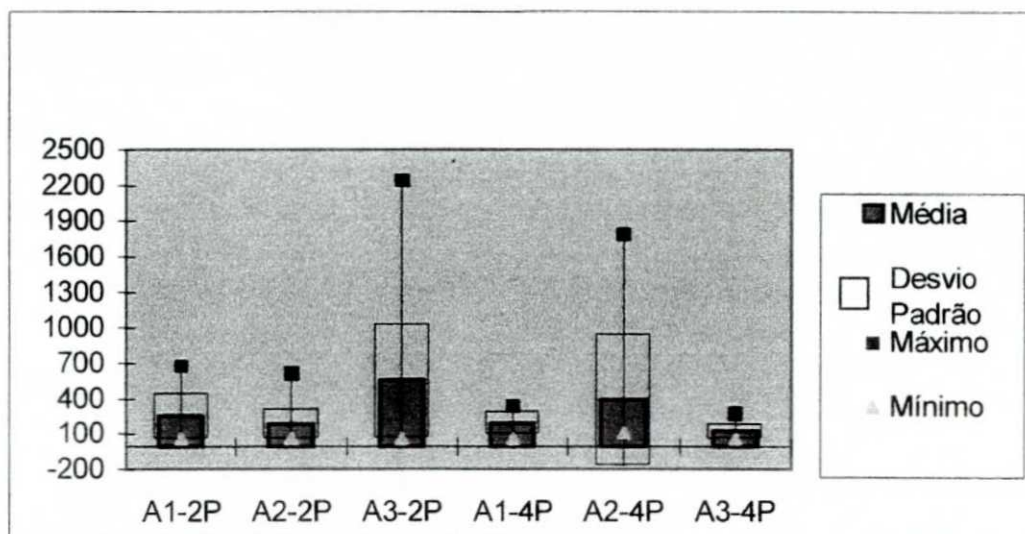


FONTE Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

Os valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão dos resultados morfométricos da extensão dos intervalos de pele não lesada nas áreas de aplicação do laser *Erbium:YAG* com 2(2P) e 4(4P) passadas nos animais 01, 02 e 03, foram: para 2 passadas, no animal 01, o valor médio foi 251,1 μ m, valor máximo 672 μ m, valor mínimo de 56 μ m e o desvio padrão foi de 193,38 μ m. No animal 02, o valor médio foi 186,67 μ m, valor máximo 616 μ m, valor mínimo de 56 μ m e o desvio padrão foi de 128,71 μ m. No animal 03, o valor médio foi 553,49 μ m, valor máximo 2240 μ m, valor mínimo de 56 μ m e o desvio padrão foi de 477,4 μ m. Para 4 passadas, no animal 01, o valor médio foi 196 μ m, o valor máximo 336 μ m, o valor mínimo de 56 μ m e o desvio

padrão foi de $96,47\mu\text{m}$. No animal 02, o valor médio foi $392\mu\text{m}$, valor máximo $1792\mu\text{m}$, valor mínimo de $112\mu\text{m}$ e o desvio padrão foi de $560,7\mu\text{m}$. No animal 03, o valor médio foi $125,52\mu\text{m}$, valor máximo $280\mu\text{m}$, valor mínimo de $56\mu\text{m}$ e o desvio padrão foi de $61,08\mu\text{m}$ (Gráfico 3).

GRÁFICO 3 - VALORES DA EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADA NAS ÁREAS DE APLICAÇÃO DE LASER ERBIUM 2 (2P) E 4 PASSADAS (4P).

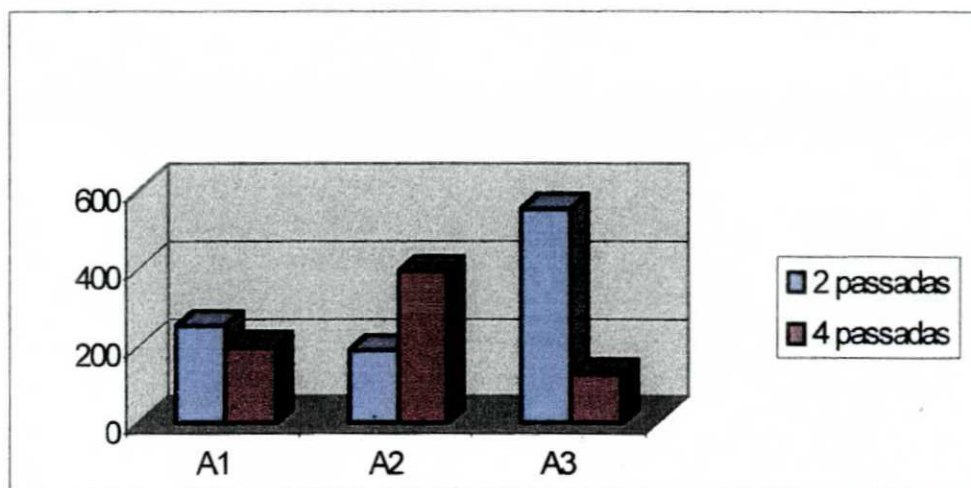


FONTE: Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

NOTA: Valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão são relatados.

Comparando-se os valores médios da extensão das áreas não lesadas pelo laser de *Erbium:YAG* com duas (2P) e quatro passadas (4P), houve maior extensão de área não lesada com 2 passadas do que em 4 passadas. Sendo os valores médios para 2 passadas foram de $251,1\mu\text{m}$; $186,67\mu\text{m}$ e $553,49\mu\text{m}$ para os animais 01, 02 e 03 respectivamente. E os valores médios para 4 passadas foram de $196\mu\text{m}$; $392\mu\text{m}$ e $125,52\mu\text{m}$ para os animais 01, 02 e 03 respectivamente.

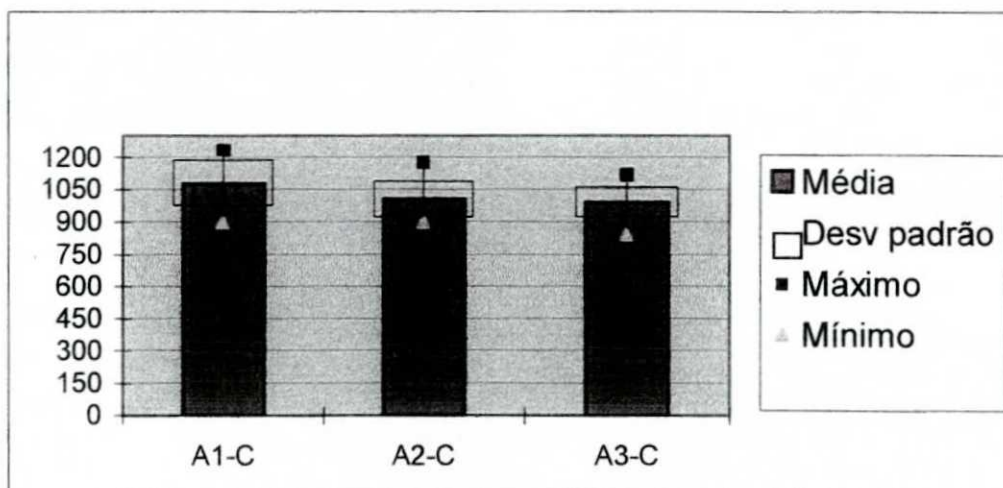
GRÁFICO 4 - COMPARAÇÃO DOS VALORES MÉDIOS DA EXTENSÃO DAS ÁREAS NÃO LESADAS PELO LASER DE *ERBIUM:YAG* COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS.



FONTE: Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

Os valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão dos resultados da medida da espessura da pele controle (C) dos três animais (A1, A2 e A3) foram medidos: para A1 o valor médio foi de 1080,33 μ m, o máximo de 1232 μ m e desvio padrão 106,35 μ m. Para A2, o valor médio foi de 1008 μ m, o máximo de 1176 μ m e desvio padrão 80,9 μ m. Para A3, o valor médio foi de 991,67 μ m, o máximo de 1120 μ m e desvio padrão 70,99 μ m.(Gráfico 5).

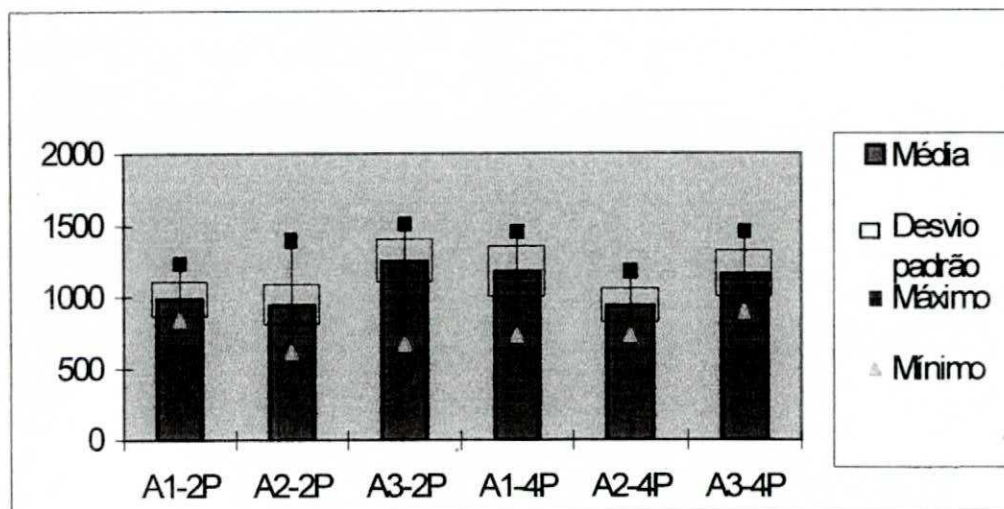
GRÁFICO 5 - VALORES DA ESPESSURA MÉDIA, MÁXIMA, MÍNIMA E DESVIO PADRÃO DA PELE CONTROLE (C) DOS ANIMAIS A1, A2 E A3.



FONTE: Tabela 1 dos anexos

A espessura da pele lesada pelo laser de *Erbium:YAG* com duas (2P) e quatro (4P) passadas foram medidas nos três animais e seus valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão encontrados foram: para A1, com 2 passadas o valor médio foi de 987,2 μm , o valor mínimo 840 μm o valor máximo 1232 μm e o desvio padrão 123,8 μm . Para A2, o valor médio foi de 945,24 μm , o valor mínimo 616 μm e o valor máximo 1400 μm e o desvio padrão 145,76 μm . Para A3, o valor médio foi de 1249,87 μm , o valor mínimo 672 μm e o valor máximo 1512 μm e o desvio padrão 156,71 μm . Para 4 passadas os valores encontrados foram: para A1, o valor médio foi de 1177,56 μm , o valor mínimo 728 μm e o valor máximo 1456 μm e o desvio padrão 180,34 μm . Para A2, o valor médio foi de 938 μm , o valor mínimo 728 μm e o valor máximo 1176 μm e o desvio padrão 119,98 μm . Para A3, o valor médio foi de 1160,25 μm , o valor mínimo 896 μm e o valor máximo 1456 μm e o desvio padrão 164,8 μm (Gráfico 6).

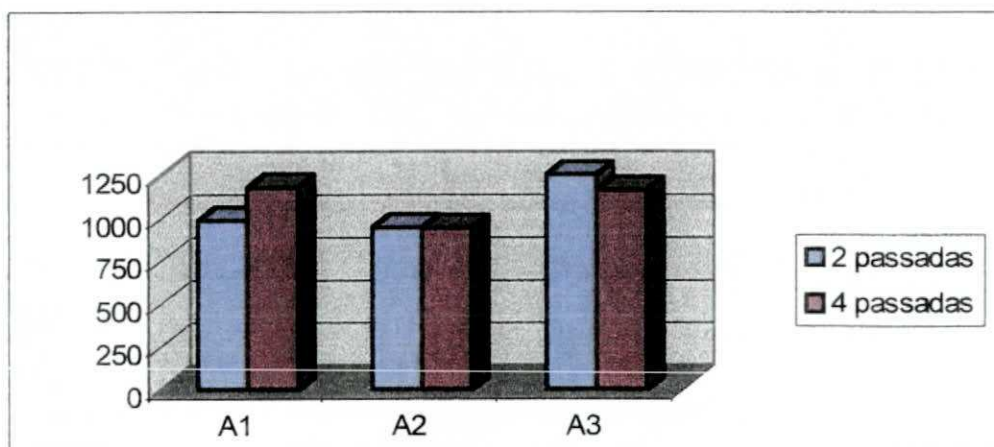
GRÁFICO 6 - VALORES DA ESPESSURA DA PELE LESADA PELO LASER DE *ERBIUM:YAG* COM 2 (2P) E 4 (4P) PASSADAS NOS TRÊS ANIMAIS A1, A2 e A3 E SEUS VALORES MÉDIO, MÁXIMO, MÍNIMO E DESVIO PADRÃO.



FONTE: Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

Os valores médios da espessura da pele lesada pelo laser de *Erbium:YAG* com duas (2P) e quatro 4(P) passadas foram comparadas nos três animais. E os valores encontrados foram, para duas passadas em A1, de 987,24μm; em A2, de 945,24μm e A3, de 1249,87μm. Para quatro passadas em A1, foi de 1177,56μm; em A2, de 938,67μm e A3, de 1160,25μm.(Gráfico 7).

GRÁFICO 7 - VALORES MÉDIOS DA ESPESSURA DA PELE LESADA PELO LASER DE *ERBIUM:YAG* COM 2(2P) E 4 (4P) PASSADAS, NOS ANIMAIS A1, A2 E A3.

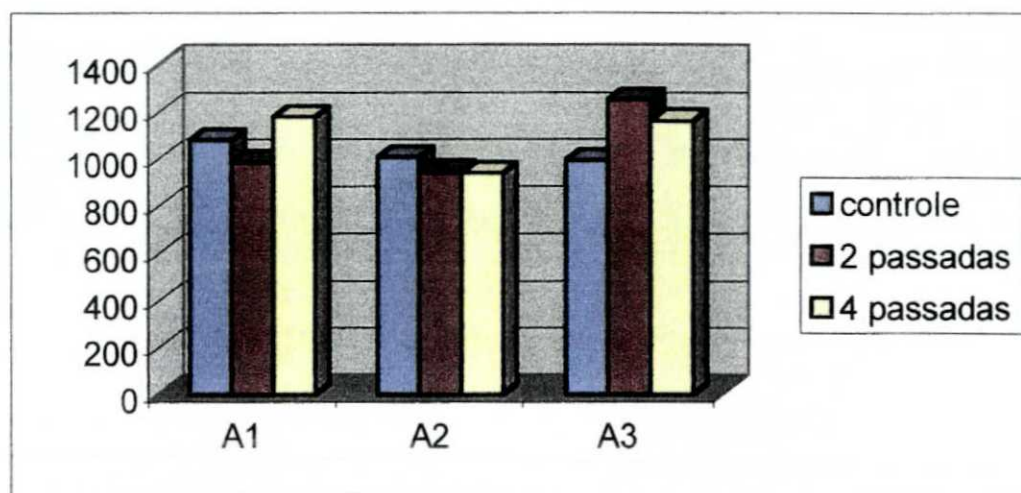


FONTE: Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

Os valores médios da espessura da pele lesada pelo laser de *Erbium:YAG* com duas (2P) e quatro (4P) passadas foram medidos e a seguir comparados com os valores médios das áreas controle nos três animais. Os valores encontrados para duas passadas foram: em A1, de 987,2 μ m; em A2, de 945,24 μ m e em A3, foi de 1249,87 μ m.

Os valores encontrados para quatro passadas foram: em A1, de 1177,56 μ m; em A2, de 938,67 μ m e em A3, foi de 1160,25 μ m. E os valores encontrados nas áreas controle foram: em A1, foi de 1080,33 μ m; em A2 foi de 1008 μ m e em A3, de 991,67 μ m.

GRÁFICO 8 - VALORES MÉDIOS DA ESPESSURA DA PELE LESADA PELO LASER DE *ERBIUM:YAG* COM 2 (2P) E 4 (4P) NOS ANIMAIS E DAS ÁREAS CONTROLE NOS ANIMAIS A1, A2 E A3.

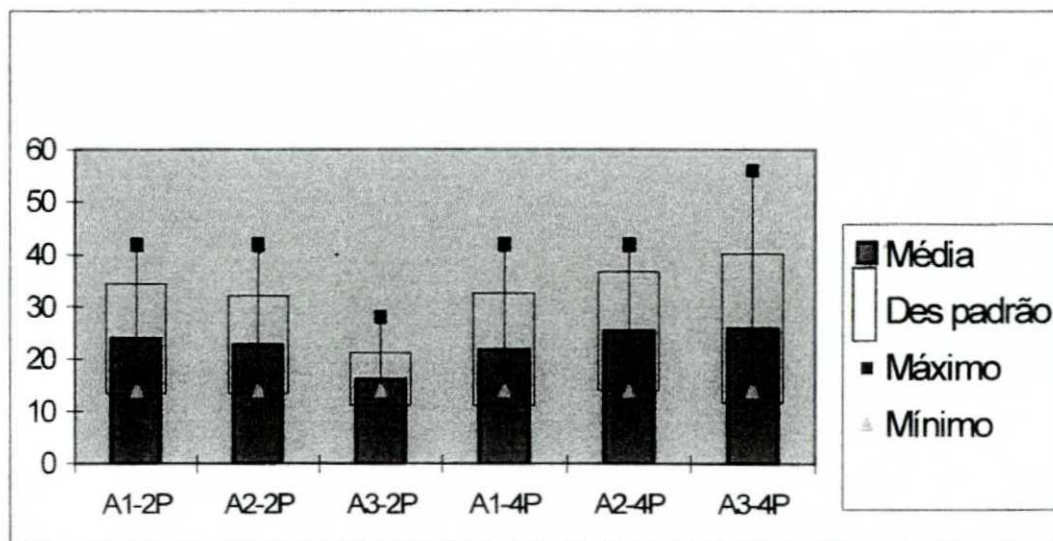


FONTE: Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

O dano térmico residual nas áreas lesadas pelo *Erbium:YAG*, com duas (2P) e quatro (4P) passadas foi medido nos animais A1, A2 e A3 e os valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão encontrados foram: para duas passadas em A1 o valor médio foi de 23,88 μ m, o valor máximo foi de 42 μ m, o valor mínimo de 14 μ m e o desvio padrão de 10,64 μ m. Em A2, o valor médio foi de 22,69 μ m, valor máximo 42 μ m, mínimo de 14 μ m e o desvio padrão 9,39 μ m. Em A3, o valor médio foi de

16,13 μ m, valor máximo de 28 μ m, mínimo de 14 μ m e desvio padrão de 5,08 μ m (Gráfico 9).

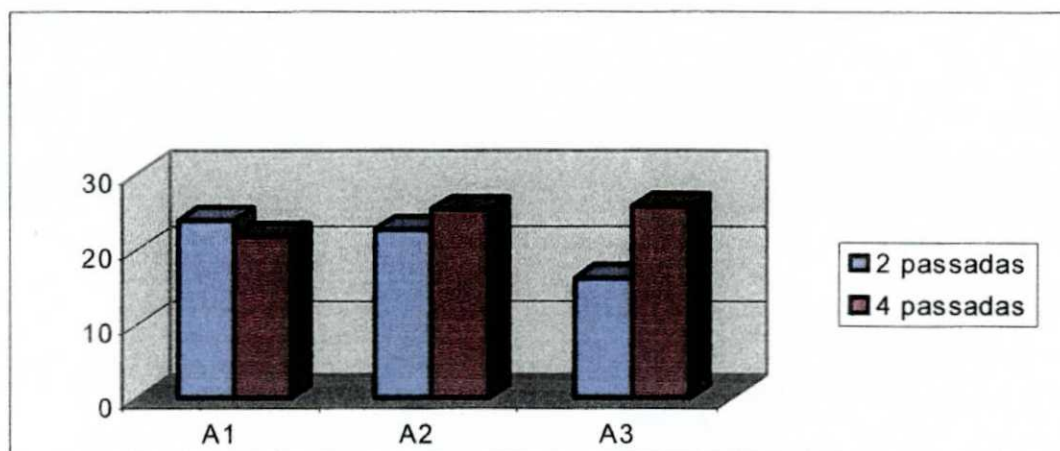
GRÁFICO 9 - VALORES MÉDIOS, MÁXIMOS, MÍNIMOS E DESVIO PADRÃO DO DANO TÉRMICO RESIDUAL NAS ÁREAS LESADAS PELO LASER DE ERBIUM: YAG COM 2 (2P) E 4(4P) PASSADAS NOS ANIMAIS A1, A2 E A3.



FONTE: Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

Os valores médios do dano térmico residual nas áreas lesadas pelo laser de *Erbium:YAG*, com duas (2P) e quatro passadas (4P) nos animais A1,A2 e A3 foram medidos para comparação e o resultado encontrado foi: para duas passadas em A1 de 23,88 μ m; em A2, 22,69 μ m e em A3, 16,13 μ m. Para quatro passadas em A1 foi de 21,78 μ m, em A2 foi de 25,33 μ m e em A3 foi de 25,81 μ m (Gráfico 10).

GRÁFICO 10 - VALORES MÉDIOS DO DANO TÉRMICO RESIDUAL NAS ÁREAS LESADAS PELO LASER DE *ERBIUM:YAG* COM 2(2P) E 4(4P)PASSADAS NOS ANIMAIS A1, A2 E A3.



FONTE: Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dos anexos.

No animal A1 com duas passadas, foram medidos os valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão e os valores encontrados foram: valor máximo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 1680 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada foi de 672 μ m, para espessura da pele controle foi de 1232 μ m, para a espessura da pele lesada, 1232 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual, 42 μ m.

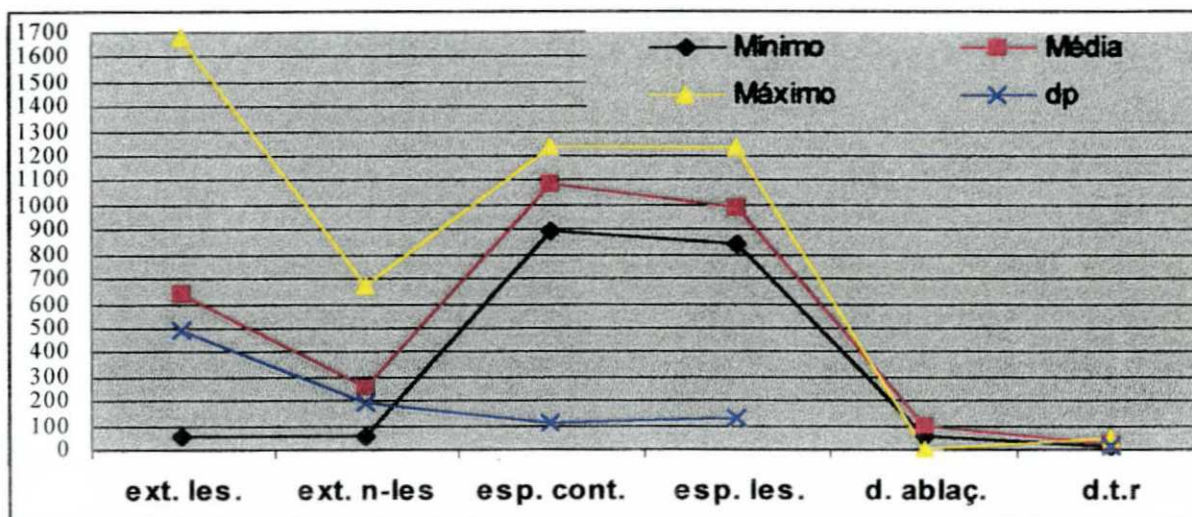
O valor mínimo encontrado para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 56 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada foi de 56 μ m, para espessura da pele controle foi de 896 μ m, para a espessura da pele lesada 840 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual 14 μ m.

O valor médio para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 640 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 251,1 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 1080,33 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 23,88 μ m.

O valor do desvio padrão para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 486,74 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 193,38 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 106,35 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 123,8 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual

(d.t.r.) 10,64 μ m (Gráfico 11).

GRÁFICO 11- VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.), DO ANIMAL A1 PARA DUAS PASSADAS



FONTE: Tabelas 1 e 2 dos anexos.

No animal A2, com duas passadas, foram medidos os valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão e os valores encontrados foram: valor máximo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 1400 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 616 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 1176 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 1400 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 42 μ m.

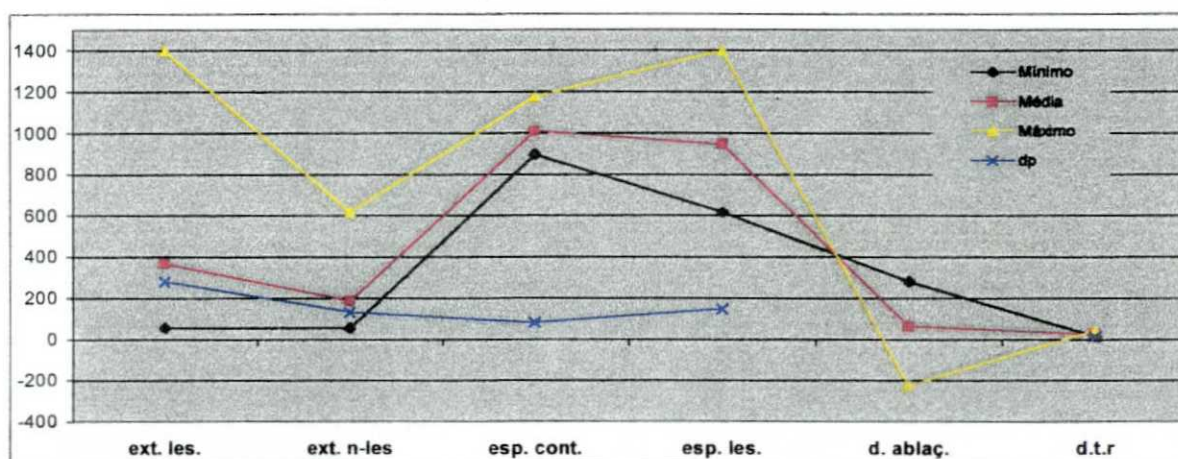
O valor mínimo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 56 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada foi de 56 μ m, para espessura da pele controle foi de 896 μ m, para a espessura da pele lesada 616 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual 14 μ m.

O valor médio para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 366,9 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 186,67 μ m, para espessura

da pele controle (C) foi de 1008 μm , para a espessura da pele lesada (esp.les.) 945,24 μm , para dano de ablação ** μm e o dano térmico residual (d.t.r.) 22,69 μm .

O valor do desvio padrão para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 277,37 μm , para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 128,71 μm , para espessura da pele controle (C) foi de 80,9 μm , para a espessura da pele lesada (esp.les.) 145,76 μm , para dano de ablação ** μm e o dano térmico residual (d.t.r.) 9,39 μm (Gráfico 12).

GRÁFICO 12 - VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.), DO ANIMAL A2 PARA DUAS PASSADAS



FONTE: Tabelas 1 e 3 dos anexos.

No animal A3, com duas passadas, foram medidos os valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão e os valores encontrados foram: valor máximo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 560 μm , para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 2240 μm , para espessura da pele controle (C) foi de 1120 μm , para a espessura da pele lesada (esp.les.) 1512 μm , para dano de ablação ** μm e o dano térmico residual (d.t.r.) 28 μm .

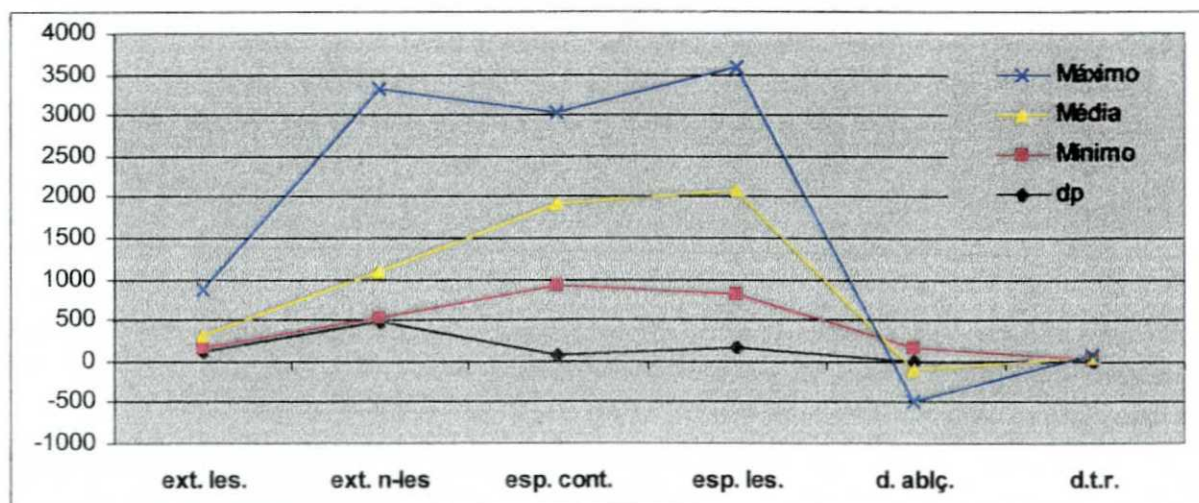
O valor mínimo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 56 μm , para extensão dos intervalos de pele não lesada foi de 56 μm , para espessura da pele

controle foi de 840 μ m, para a espessura da pele lesada 672 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual 14 μ m.

O valor médio para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 138,21 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 553,49 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 991,67 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 1249,87 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 16,13 μ m.

O valor do desvio padrão para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 117,26 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 477,4 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 70,99 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 156,71 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 5,08 μ m (Gráfico 13).

GRÁFICO 13 - VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DE PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP.CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R) DO ANIMAL A3 PARA DUAS PASSADAS



FONTE: Tabelas 1e 4 dos anexos

Para o animal A1, com quatro passadas, foram medidos os valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão e os valores encontrados foram: valores máximos para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 2464 μ m, para extensão dos intervalos

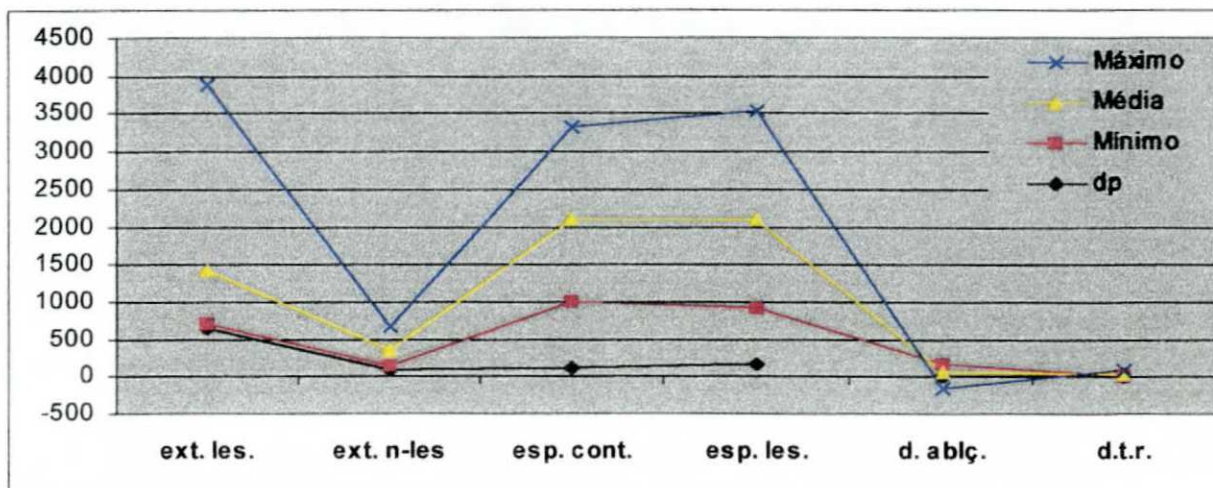
de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 336 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 1232 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 1456 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 42 μ m.

O valor mínimo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 56 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada foi de 56 μ m, para espessura da pele controle foi de 896 μ m, para a espessura da pele lesada 728 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual 14 μ m.

O valor médio para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 715,56 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 196 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 1080,33 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 1177,56 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 21,78 μ m.

O valor do desvio padrão para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 648,81 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 96,47 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 106,35 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 180,34 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 10,82 μ m (Gráfico 14).

GRÁFICO 14 - VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP. CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.), DO ANIMAL A1 PARA QUATRO PASSADAS



FONTE: Tabelas 1 e 4 dos anexos

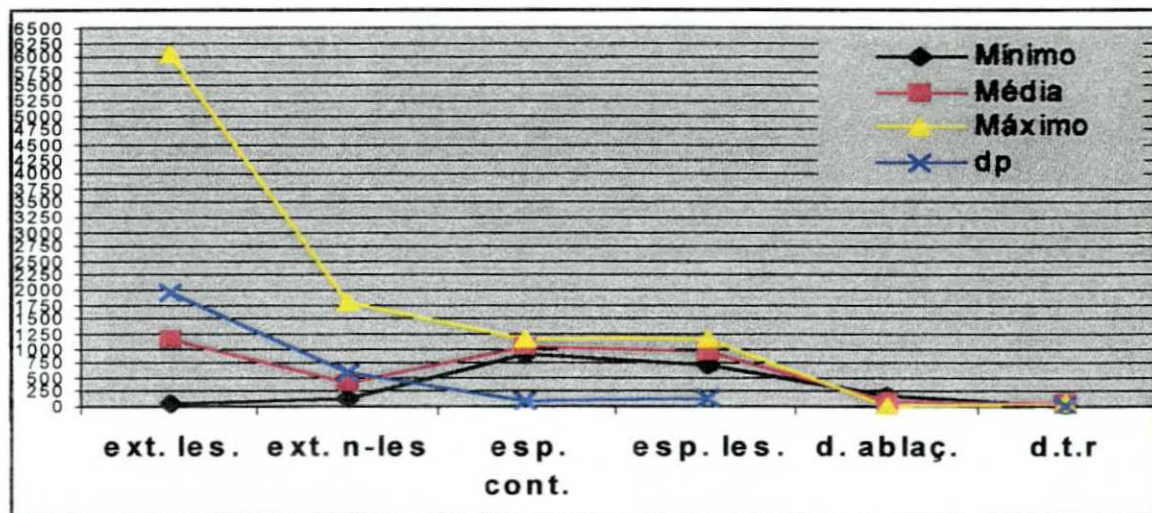
Para o animal A2, com quatro passadas, foram medidos os valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão encontrados, foram: valor máximo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 6048 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 1792 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 1176 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 1176 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 42 μ m.

O valor mínimo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 56 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada foi de 112 μ m, para espessura da pele controle foi de 896 μ m, para a espessura da pele lesada 728 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual 14 μ m.

O valor médio para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 1138,67 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 392 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 1008 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 938,67 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 25,33 μ m.

O valor do desvio padrão para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 1958,91 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 560,7 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 80,9 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 119,98 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 11,39 μ m.(Gráfico 15).

GRÁFICO 15 - VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP. CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R), DO ANIMAL A2 PARA QUATRO PASSADAS



FONTE: Tabelas 1 e 5 dos anexos.

Para o animal A3, com quatro passadas, foram medidos os valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão encontrados, foram: valor máximo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 4536 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 280 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 1120 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 1456 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 56 μ m.

O valor mínimo para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 112 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada foi de 56 μ m, para espessura da pele

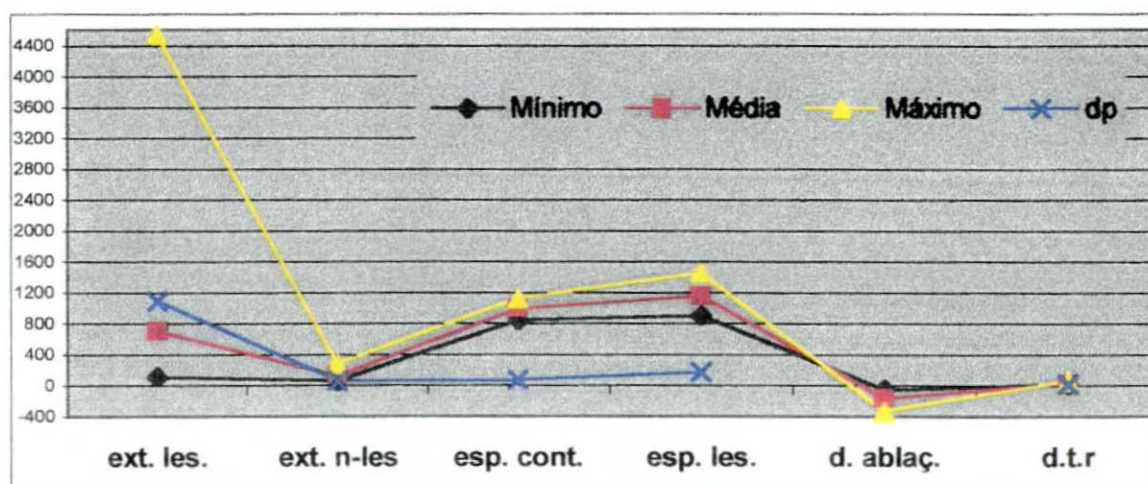
controle foi de 840 μ m, para a espessura da pele lesada 896 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual 14 μ m.

O valor médio para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 700,85 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 125,52 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 991,67 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 1160,25 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 25,81 μ m.

O valor do desvio padrão para a extensão da pele lesada (ext.les.) foi de 1083,36 μ m, para extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.) foi de 61,08 μ m, para espessura da pele controle (C) foi de 70,99 μ m, para a espessura da pele lesada (esp.les.) 164,8 μ m, para dano de ablação ** μ m e o dano térmico residual (d.t.r.) 14,27 μ m (Gráfico 16).

** Valor não obtido

GRÁFICO 16 - VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS, MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA EXTENSÃO DA PELE LESADA (EXT.LES.), EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADOS (EXT.N-LES.), ESPESSURA DA PELE CONTROLE (ESP. CONT.), ESPESSURA DA PELE LESADA (ESP.LES.), DANO DE ABLAÇÃO (D.ABLÇ.) E DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R), DO ANIMAL A3 PARA QUATRO PASSADAS



FONTE: Tabelas 1 e 7 dos anexos.

4.3 RESULTADOS ESTATÍSTICOS EM MICRÔMETROS

4.3.1 EXTENSÃO DAS ÁREAS LESADAS (EXT. LES.)

Testou-se a hipótese nula de que a extensão média das áreas lesadas (ext. les.) para 2 passadas é igual à ext. les. média para 4 passadas, versus a hipótese alternativa de ext. les. médias diferentes. Os resultados obtidos no estudo referentes a médias e desvios padrões são apresentados na tabela 2 abaixo.

TABELA 2 – EXTENSÕES DAS ÁREAS LESADAS (EXT. LES.) NOS 3 ANIMAIS (medidas em micrômetros).

Animal (NV1)	Aplicação (NV2)	N ^o corte histológico (NV3)	Médias	Desvio padrão	N ^o medidas morfométricas (NV4)
A1	2P	1	768.00	514.9913	7
		2	735.00	470.8546	8
		3	888.00	524.7578	7
		4	379.08	382.6579	13
	4P	1	638.40	723.5350	10
		2	715.56	600.3880	9
		3	833.00	721.1602	8
		4	696.89	644.6760	9
A2	2P	1	291.20	173.5097	15
		2	387.69	285.9672	13
		3	354.67	270.7816	15
		4	436.80	357.4487	15
	4P	1	1366.40	2619.0410	5
		2	924.00	1799.2480	6
		3	1120.00	2068.5920	5
		4	1153.60	1985.2770	5
A3	2P	1	134.40	119.3583	15
		2	102.67	62.4199	12
		3	168.00	151.6487	10
		4	156.80	131.4642	10
	4P	1	819.00	1508.8670	8
		2	453.09	260.8116	11
		3	679.00	1094.6890	8
		4	1026.67	491.6060	6
Geral			533.95	839.4310	230

O resultado do teste de hipótese indicou a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ($p < 0,001$). Este fato indica que rejeita-se a hipótese de médias

de ext. les. iguais. Combinando os resultados, encontrou-se uma ext. les. média para 2 passadas de 358,40 micrômetros e para 4 passadas de 807,02 micrômetros.

4.3.2 EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADA (EXT. N-LES).

Testou-se a hipótese nula de que a ext. n-les. média para 2 passadas é igual à ext. n-les. média para 4 passadas, versus a hipótese alternativa de ext. n-les. médias diferentes. Os resultados obtidos no estudo referentes a médias e desvios padrões são apresentados na tabela 3 abaixo.

TABELA 3 – EXTENSÃO DOS INTERVALOS DE PELE NÃO LESADA (EXT. N-LES.) NOS 3 ANIMAIS (medidas em micrômetros).

Animal	Aplicação (NV2)	Número do corte histológico (NV3)	Médias	Desvio padrão	Número de medidas morfométricas realizadas (NV4)
1	2	1	317.33	249.6034	6
		2	280.00	214.4637	7
		3	326.67	238.6853	6
		4	163.33	90.7958	12
	4	1	130.67	68.5857	9
		2	210.00	93.4666	8
		3	224.00	96.9948	7
		4	231.00	105.5651	8
2	2	1	200.00	140.1538	14
		2	238.00	163.9202	12
		3	168.00	93.1896	14
		4	148.00	108.9587	14
	4	1	672.00	763.7382	4
		2	257.60	325.5715	5
		3	126.00	28.0000	4
		4	546.00	831.0861	4
3	2	1	556.00	601.7227	14
		2	488.73	423.5991	11
		3	609.78	426.8916	9
		4	541.33	457.5238	9
	4	1	120.00	75.3304	7
		2	140.00	65.9966	10
		3	96.00	42.3320	7
		4	145.60	50.0879	5
Geral			281.36	326.2727	206

O resultado do teste de hipótese indicou a rejeição da hipótese nula no nível

de significância de 5% ($p < 0,001$). Este fato indica que rejeita-se a hipótese de médias de ext. n-les. iguais. Combinando os resultados, encontrou-se uma ext. n-les. média para 2 passadas de 323,31 micrômetros e para 4 passadas de 212,51 micrômetros.

4.3.3 PROFUNDIDADE DO DANO DE ABLAÇÃO (D. ABLAÇ.)

Testou-se a hipótese nula de que a profundidade média do dano de ablação (d. ablaç.) para 2 passadas é igual a d. ablaç. média para 4 passadas, versus a hipótese alternativa de d. ablaç. médias diferentes. Os resultados obtidos no estudo referentes a médias e desvios padrões são apresentados na tabela 4 abaixo.

TABELA 4 – PROFUNDIDADE MÉDIA DO DANO DE ABLAÇÃO (D. ABLAÇ.) NOS 3 ANIMAIS (medidas em micrômetros).

Animal	Aplicação (NV2)	Número do corte histológico (NV3)	Médias	Desvio padrão	Número de medidas morfológicas realizadas (NV4)
1	2	1	312.24	514.9913	7
		2	345.24	470.8546	8
		3	192.24	524.7578	7
		4	701.16	382.6579	13
	4	1	441.84	723.5350	10
		2	364.68	600.3880	9
		3	247.24	721.1602	8
		4	383.35	644.6760	9
2	2	1	716.80	173.5097	15
		2	620.31	285.9672	13
		3	653.33	270.7816	15
		4	571.20	357.4487	15
	4	1	-358.40	2619.0410	5
		2	84.00	1799.2480	6
		3	-112.00	2068.5920	5
		4	-145.60	1985.2770	5
3	2	1	1671.60	119.3583	15
		2	1703.33	62.4199	12
		3	1638.00	151.6487	10
		4	1649.20	131.4642	10
	4	1	987.00	1508.8670	8
		2	1352.91	260.8116	11
		3	1127.00	1094.6890	8
		4	779.33	1491.6060	6
Geral			773.92	960.8281	230

O resultado do teste de hipótese indicou a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ($p < 0,001$). Este fato indica que rejeita-se a hipótese de médias

de d. ablaç. iguais. Combinando os resultados, encontrou-se um d. ablaç. médio para 2 passadas de 935,56 micrômetros e para 4 passadas de 522,47 micrômetros.

4.3.4 DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.)

Testou-se a hipótese nula de que o dano térmico residual médio (d.t.r.) para 2 passadas é igual ao d.t.r. médio para 4 passadas, versus a hipótese alternativa de d.t.r. médios diferentes. Os resultados obtidos no estudo referentes a médias e desvios padrões são apresentados na tabela 5 abaixo.

TABELA 5 – O DANO TÉRMICO RESIDUAL (D.T.R.) NOS 3 ANIMAIS DESTE EXPERIMENTO (medidas em micrômetros).

Animal	Aplicação (NV2)	Número do corte histológico (NV3)	Médias	Desvio padrão	Número de medidas morfométricas realizadas (NV4)
1	2	1	22.00	7.4833	7
		2	22.75	10.4163	8
		3	28.00	12.5220	6
		4	23.69	11.9679	13
	4	1	25.20	11.0433	10
		2	18.67	7.0000	9
		3	22.75	12.8258	8
		4	20.22	12.3468	9
2	2	1	26.13	10.4051	15
		2	21.54	9.2432	13
		3	24.27	8.3106	15
		4	19.60	8.8544	15
	4	1	25.20	15.3362	5
		2	28.00	12.5220	6
		3	25.20	11.7132	5
		4	22.40	7.6681	5
3	2	1	14.00	0.0000	14
		2	14.00	0.0000	12
		3	19.60	7.2296	10
		4	18.20	6.7626	10
	4	1	21.00	14.9666	8
		2	24.18	14.1267	11
		3	32.00	10.5830	7
		4	28.00	17.7088	6
Geral			22.14	10.5871	227

O resultado do teste de hipótese indicou a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ($p=0,0023$). Este fato indica que rejeita-se a hipótese de médias de d.t.r. iguais. Combinando os resultados, encontrou-se um d.t.r. para 2 passadas de 20,90 micrômetros e para 4 passadas de 24,07 micrômetros.

5 DISCUSSÃO

5.1 DO ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

Foi escolhido o rato (*Rattus norvegicus*), como animal de experimentação, devido a facilidade na obtenção e acomodação, bem como alta resistência que apresentam a manipulação e agressão cirúrgica.

Quanto à região cutânea escolhida, deve-se ao fato desta ser difícil as tentativas que de hábito o animal faz para atingi-las. Além de facilitar a distribuição das feridas, a aplicação do laser e a colheita das peças cirúrgicas. Isto evidenciou-se em estudo piloto realizado na região dorsal (CABRAL, L.M., 1989).

O porco seria outro animal passível de escolha para a realização deste experimento, devido a semelhança de sua pele com a do homem. Entretanto esta prática em nosso meio é bastante limitada, seja pela dificuldade em se obter o porco bem como de seu custo. Seriam também necessárias instalações específicas que o Biotério do Instituto de Pesquisas Médicas não dispõe. Alguns autores, HIBST, R., e KAUFMANN, R., (1991), KAUFMANN, R., e HIBST, R., (1989 e 1996), utilizaram o porco em seus experimentos com laser de Er:YAG.

A literatura sobre o laser de Er:YAG é limitada pelo pouco tempo em que este aparelho se encontra em uso. Na literatura consultada, poucos trabalhos experimentais foram encontrados a exemplo dos de HIBST, R., e KAUFMANN, R., (1991), KAUFMANN, R., e HIBST, R., (1989 e 1996) com suínos e CUBEDDU, R.; BRANCATO, R., e SOZZI, C.; TARONI, P.; TRABUCCHI, G.; VALENTINI, G., E VERDI, M., (1996) e ZWEIG, A.D., FRENZ, M., ROMANO, V., WEBER, H.P., (1988) com ratos.

5.2 DO EQUIPAMENTO UTILIZADO

5.2.1 Do aparelho de laser

Foi utilizado o aparelho *DERMA 20®* por ser um dos aparelhos de Er:YAG disponíveis em nosso meio e por estar indicado para o *resurfacing*.

Os parâmetros utilizados foram o máximo permitido pelo aparelho para testar toda a sua potencialidade. Mesmo sabendo que para se dar início ao ablação é preciso uma fluência de 1,6 J/ cm² utilizou-se 24,06 J/ cm², obtido pela fórmula :

$$F = E / A.$$

onde F é a fluência , E é a energia dado em Joules e A é o diâmetro do *spot*.

A duração do pulso é fixa sendo de 350 microsegundos

5.2.2 Do instrumental

O laser Er:YAG é aplicado através de uma caneta (*handpiece*). Esta caneta pode ser utilizada como um pincel ou com o *scanner*.

Com a sistemática do uso de um pincel procedimento, torna-se muito dependente do operador. A distância da caneta ao tecido alvo não irá interferir, haja vista que o raio laser é colimado (leva a mesma quantidade de energia em qualquer ponto de seu feixe). Mas haverá variação na velocidade de aplicação que pode ser maior ou menor com o pincel do que com *scanner*, dependendo da habilidade do operador.

Com o pincel haverá muita dificuldade técnica em se manter uma regularidade da sobreposição dos *spots* e isto irá interferir na quantidade de tecido que sofrerá ablação e conseqüente dano térmico (HOHENLEUTNER, U.; HOHENLEUTNER, S.; BAUMLER, W.; LANDTHALER, H.1997). Sendo assim,

dificulta a mensuração dos resultados e as conclusões de estudos sobre ablação e necrose térmica realizados através de passadas com a sistemática do uso de pincel.

Com o uso do *scanner* é possível dar regularidade e maior velocidade a aplicação sendo de grande utilidade quando se deseja fazer o *resurfacing* em extensas áreas como a face. Outras qualidades do *scanner* são de permitir a determinação de uma figura geométrica que seja mais adequada a região anatômica em tratamento fazendo rotações destas figuras facilitando a aplicação. Com o *scanner* pode-se estabelecer previamente quantas passadas o operador deseja.

Mas a grande vantagem do *scanner* é dar maior precisão à colocação dos *spots* sobre o tecido alvo que pode ser de 0% a 50 % de sobreposição. WEINSTEIN,C., (1998) utilizou o *scanner* em laser de Er:YAG para o *resurfacing* de pele para estudo clínico no tratamento de pigmentação, rugas, seqüela de acne, cicatriz e associado em ritidoplastia. Utilizou densidade de 30% de sobreposição dos *spots* com variação da fluência de 5 a 20 J/ cm² , o número de passadas variou de 1 a 3. Mantendo fixo o padrão do formato que era quadrado, frequência de 20 Hz e tamanho do *spot* de 3mm. Com isto concluiu que o sistema *scanner* propicia rapidez e precisão. DAVID, L.M.; LASK, G.P.; GLASSBERG, E. (1989), comparou o uso do *scanner* com a caneta usada como pincel sobre extensas áreas como no *resurfacing* de face utilizando o laser de CO₂ da *Coherent* ®. Ressaltou que muitas das complicações resultavam dos múltiplos impactos da sobreposição dos pulsos (*overlaps*) que produziam carbonização e vaporização profunda de tecidos não desejável. Fez de 1-3 passadas e com gaze úmida em peróxido de hidrogênio e removeu o tecido tratado. Na avaliação macroscópica observou maior uniformidade com o *scanner* do que com a mão livre confirmado clinicamente pela recuperação mais rápida. Concluiu o *resurfacing* da face em 15 minutos com o *scanner* contra 1 hora a mão livre. APFELBERG, D.B.(1996), utilizando *scanner* com laser ultra pulsado de dióxido de carbono em *resurfacing* de face, concluiu ser o procedimento

mais rápido e uniforme.

5.3 Das medidas de segurança.

Durante o procedimento alguns cuidados básicos são necessários. O primeiro é no sentido de preservar o paciente, isolando áreas onde não será aplicado o laser, com compressas embebidas em água ou soro fisiológico. Como o laser tem grande afinidade pela água, primeiro irá aquecer e evaporar esta água para depois queimar o tecido vivo.

Deve-se ter cuidado em não apontar o laser para o olho do paciente pois pode levar à cegueira e sempre que não estiver em uso, o aparelho deve estar no comando *stand by*.

A equipe cirúrgica deve-se utilizar de óculos especiais durante todo o procedimento. Estes óculos são definidos por MPE (*maximal permissible exposure*) máxima exposição possível e pela NHZ (*nominal hazard zone*) área de perigo em potencial, para cada comprimento de onda.

A MPE é definida como o máximo de exposição a radiação do laser sem efeitos nocivos e/ou alterações biológicas nos olhos ou pele. A NHZ é a área onde o nível de radiação direta, reflexa ou difusa exceda a MPE. Portanto o óculos protege quando se está exposto ao NHZ do laser. FRIDMANN, N.R.(1987).

A equipe deve estar com máscara cirúrgica e utilizar-se sempre de potente aspirador com filtro novo para aspirar a fumaça decorrente da vaporização de tecidos. Esta fumaça pode conter partículas potencialmente perigosas. Podem provocar irritações as vias aéreas, infecções e a possibilidade de transmissão de vírus BAGGISH, M.,(1987); FREIROG, L.; CHAPMAN, G., e SIELCZAC, M.,(1987) e GARDER, J.M., (1988).

5.4 Do pré-operatório e anestesia

Sendo os animais provenientes do Instituto de Tecnologia do Paraná e de lá transportados ao biotério do Instituto de Pesquisas Médicas do Curso de Pós - Graduação em Princípios de Cirurgia da Faculdade Evangélica de Curitiba, definiu-se o período de uma semana para adaptação dos animais ao novo ambiente.

Quanto à tricotomia, utilizou-se o arrancamento manual dos pêlos. Esta técnica é de fácil execução e apresenta a vantagem de não traumatizar a região, fato de ocorrência comum quando são utilizados instrumentos laminados de acordo com CABRAL, L.M., (1989).

A distribuição dos animais foi aleatória e ficou um em cada gaiola.

A marcação dos animais foi com caneta própria para este fim e é a habitualmente utilizada em centro cirúrgico.

A utilização de anestesia geral com hidrato de cloral ou tiopental sódico não foi necessária pois o tempo anestésico exigido para o procedimento foi menos de dez minutos para provocar a lesão e ao mesmo tempo para ressecar as peças. Portanto, a anestesia inalatória com éter sulfúrico foi satisfatória para o ato operatório proposto.

5.5 DO ATO OPERATÓRIO

5.5.1 Do procedimento cirúrgico

O procedimento cirúrgico transcorreu sem intercorrências em todos os animais. A sistematização técnica dos procedimentos, o adestramento da equipe cirúrgica e os cuidados com o material e a segurança, formaram a base para a execução do experimento.

5.5.2 Da ferida experimental

Entre uma passada e outra foi feito o debridamento com gaze umidificada em soro fisiológico para a remoção de resíduos que pudessem dificultar a absorção da energia laser pelos tecidos, como sugerem ZWEIG, A.D.; FRENZ, M.; ROMANO, V.; WEBER, H.P. (1988) em trabalho experimental feito em ratos. Em outro estudo, GOLDEMANN, P.M. (1997) sugerem o não debridamento para evitar o traumatismo e exposição de vasos da camada papilar evitando assim sangramento.

No presente estudo não se observou sangramento durante os procedimentos. PHILIP, R.H.H., (1998) utilizando a fluência de 4,6 J/cm² com 2 e 3 passadas na região volar do antebraço de voluntários humanos, não observaram sangramento.

5.6 DO PREPARO DO MATERIAL, ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E MÉTODO MORFOMÉTRICO

5.6.1 Do preparo do material para o estudo histológico:

O material foi imediatamente fixado em formalina a 10% a fim de se evitar qualquer artefato que pudesse ser induzido por autólise dos tecidos, o que poderia dificultar a análise histológica. O fixador escolhido foi a formalina a 10% por se tratar de fixador amplamente usado em laboratórios de anatomia patológica, de fácil acesso e preparo e baixo custo. Além disso, a formalina a 10% permite que uma ampla variedade de técnicas histológicas, histoquímicas e imunohistoquímicas sejam realizadas posteriormente. O tempo de fixação foi de no mínimo 72 horas, isto por que a formalina tem uma velocidade de fixação de 1mm por hora, sendo que os fragmentos tinham cerca de 20x10x5mm. O período de 72 horas seria mais que suficiente para completar a fixação. (BANCROFT, J.A.; STEVENS, A., 1982).

As colorações utilizadas neste estudo foram a hematoxilina-eosina (HE), a coloração para fibras elásticas de Hart (FEH) e o tricrômico de Gomori (TG). A HE foi utilizada por se tratar de coloração de rotina, amplamente utilizada em serviços de anatomia patológica e que permite a visualização das células e de seus núcleos, bem como da matriz extracelular, com bastante detalhe histológico. O TG foi utilizado neste estudo a fim de evidenciar melhor as fibras colágenas da derme que são lesadas pelo laser, uma vez que estas são as principais responsáveis pela elasticidade da pele. A FEH foi escolhida por se tratar de uma coloração a base de prata que evidencia muito bem as fibras elásticas, uma tipo especial de fibra colágena presente na derme superficial de mamíferos que é responsável pelo aspecto jovem da pele (BANCROFT, J.A. et al, 1982).

Obteve-se três amostras de cada animal, sendo uma da área controle, uma da área lesada com 2 passadas e a terceira da área lesada com 4 passadas. Para cada amostra foram cortadas 3 lâminas, cada qual com 4 cortes, sendo a primeira corada com HE, a segunda corada com FEH e a terceira com TG. Os cortes histológicos (total de 108), em número de 12 para cada área (C, 2P, 4P) de cada animal (A1, A2, A3), foram retirados de forma seriada a fim de se representar uma grande área da amostra. Os cortes seriados são aqueles retirados em fita e pescados da cuba histológica de forma seqüencial, isto é, se estes cortes fossem sobrepostos nos dariam um desenho tridimensional da amostra, pois nenhum corte é desprezado. Já se utilizarmos a técnica de cortes escalonados, isto é, a retirada de um corte a cada 50 ou 100 micrômetros de desbaste do material, poderíamos representar uma área muito maior do espécime, porém correríamos o risco de desprezar áreas importantes para a análise histológica durante o desbaste (A espessura dos cortes foi de 4micrômetros pois é uma espessura padrão, de fácil execução e que permite um adequado estiramento dos cortes nas lâminas sem provocar artefatos indesejáveis (BANCROFT, J.A. et al, 1982).

Para este estudo não seria interessante desprezarmos cortes histológicos uma vez que se quer avaliar a homogeneidade das lesões causadas pelo laser Erbium com duas e quatro passadas com 0% de sobreposição dos *spots*.

5.6.2 Do estudo histológico

Os passos utilizados para a avaliação morfológica geral das lesões imediatas causadas pelo laser Erbium foram estabelecidos seguindo-se os critérios utilizados para o estudo da pele normal em humanos (URMACHER, C., 1995).

5.6.3 Do método morfométrico

Para o estudo morfométrico utilizou-se microscópio aferido com grátícula por se tratar de um método barato e acessível de fácil execução, disponível no momento no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas, UFPR, onde as medidas foram realizadas. Métodos mais modernos já foram descritos e executados tais como a morfometria através de programas de análise de imagem, porém este método exige aparelhos modernos, softwares específicos e pessoal treinado na área, o que ainda não está à disposição nesta universidade. As variáveis escolhidas para este experimento são aquelas de interesse no estudo dos efeitos do laser em humanos.

As áreas de controle foram utilizadas somente para se conhecer melhor a pele normal do animal e para se calcular o dano de ablação, já que este é caracterizado pela quantidade de pele que é vaporizada pelo laser e não pode ser medida diretamente. Em vista disso, o dano de ablação teve que ser calculado pela subtração da espessura da pele lesada da pele controle.

5.7 DA AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Para análise dos dados deste estudo utilizou-se um modelo de variância hierárquico uma vez que este experimento conta apenas com três animais. Em vista disso, poder-se-ia considerar a amostragem inadequada e pequena, porém, utilizando-se o modelo hierárquico de variáveis pode-se entender que a amostra é suficiente como demonstraram os testes estatísticos. Sendo assim o nível hierárquico mais alto foram os 3 ratos. O segundo nível foi o número de passadas (2P e 4P) em cada rato, dividindo-se assim a amostragem em dois grupos. A seguir, para cada uma destes dois grupos foram feitos 4 cortes corados em hematoxilina-eosina perfazendo 24 cortes, o que caracterizou o terceiro nível hierárquico.

As variáveis de interesse estudadas neste experimento foram 4 - extensão das áreas lesadas, extensão das áreas não lesadas, profundidade do dano de ablação e dano térmico residual - como já explicado no capítulo material e métodos. O quarto e último nível hierárquico deste estudo foi o número de medidas feitas, para cada uma das variáveis de interesse, em cada um dos cortes realizados, o que realmente caracterizou o número de vezes que cada uma das variáveis de interesse deste experimento foi testada a fim de se obter um nível de 5% de significância estatística. Para tanto, em cada um dos 24 cortes realizados, foram feitas inúmeras medidas destas variáveis de interesse. A exemplo disto, no primeiro corte do rato de número um com 2 passadas foram realizadas 7 medidas de extensão das áreas de ablação, 6 medidas de extensão das áreas de pele não lesada, 7 medidas da espessura da pele nas áreas lesadas e 7 medidas da profundidade do dano térmico. Já no quarto corte do mesmo animal para o mesmo número de passadas foram realizadas 13 medidas de extensão das áreas de ablação, 12 medidas de extensão das áreas de pele não lesada, 13 medidas da espessura da pele nas áreas lesadas e 13 medidas da profundidade do dano térmico. Esta variação numérica se deve ao fato de que, segundo a metodologia utilizada,

foram realizadas tantas medidas quantos intervalos de áreas lesadas e não lesadas fossem encontrados no corte, e estes intervalos foram variáveis de corte para corte. Em vista disso, o número de medidas retiradas para cada variável de interesse em cada animal para duas passadas variou de 35 a 58 medidas com uma média de 47. Já para quatro passadas este número variou de 21 a 36 medidas com uma média de 30. Para cada uma das variáveis de interesse testou-se a hipótese nula de medidas iguais para 2 e 4 passadas, versus a hipótese alternativa de medidas diferentes. E o nível de significância considerado foi de 5% e os intervalos de confiança foram de 95%.

5.8 DOS ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA PELE CONTROLE E DA LESADA COM LASER ERBIUM (DUAS E QUATRO PASSADAS)

5.8.1 Dos aspectos histológicos da pele controle

A pele do rato é muito semelhante à pele humana, porém há uma diferença importante que pode trazer algumas dificuldades na interpretação dos resultados de trabalhos experimentais baseados na pele deste animal. A pele dos ratos não apresenta uma divisão clara entre a derme papilar e a reticular nos métodos histológicos convencionais como é observado na pele de humanos. Assim sendo, os trabalhos com laser que têm seus resultados quantitativos de dano de ablação e térmico residual embasados em divisões entre derme papilar, reticular superficial e reticular profunda são válidos em humanos mas não devem ser utilizados em ratos onde esta divisão seria arbitrária. Além disso, mesmo em humanos, as divisões entre derme papilar, reticular superficial e profunda podem ser muitas vezes subjetivas pois as espessuras destes compartimentos não é regular em toda a extensão da pele. Em vista disso o método morfométrico, como aplicado neste experimento, torna um dado subjetivo de divisão em compartimentos em dados objetivos que são as medidas executadas em micrômetros (URMACHER, C.,1995).

A transição entre a derme e a hipoderme é totalmente irregular nos ratos, sendo que esta última tem uma espessura muito variável como pode ser vista nas fotomicrografias 5 e 6 A. Já a transição entre a hipoderme e o próximo compartimento que é uma faixa de músculo estriado esquelético é muito regular como pode ser visto na fotomicrografia 5A. Em vista dessa regularidade esta última zona de transição foi escolhida como ponto de referência para as medidas de espessura tanto da pele controle como da pele lesada. Se a zona de transição entre a derme e a hipoderme fosse utilizada como seria o esperado, a irregularidade da mesma poderia falsear os resultados do experimento (URMACHER, C., 1995).

Os ratos apresentam, geralmente, uma pele com camada córnea mais espessa que o habitual nos humanos, comparável àquela encontrada nas palmas das mãos e solas dos pés dos mesmos. Porém, a espessura da camada córnea pode ser muito variável nestes animais como pode ser observado nas fotomicrografias 4A, 5 e 6 B. Em vista disso a camada granulosa que é mais regular foi utilizada como ponto de referência para as medidas de espessura da pele controle e da pele lesada (URMACHER, C., 1995).

Além disso, outras diferenças podem ser encontradas entre a pele de ratos e a pele humana, tais como, a quantidade de folículos pilosos e glândulas sebáceas, que é bem maior nos ratos do que na pele humana como se pode ver na fotomicrografia 4, 5 e 6 A. Os ratos usados neste estudo são albinos, por isto os melanócitos não estão presentes na camada basal da epiderme como pode ser observado nas fotomicrografias 4, 5 e 6 B. Outra diferença importante é na quantidade de fibras elásticas encontradas na derme que é bem menor nos ratos do que nos humanos como pode ser observado na fotomicrografia 6B. Isto pode ser importante em estudos experimentais futuros utilizando os ratos como modelo e que visam os processos de cicatrização suscitados pelo laser. Isto por que a cicatrização das lesões causadas pelo laser em humanos está basicamente baseada na produção de fibras elásticas em grande quantidade que darão à

pele uma aparência mais esticada e jovem. Esta cicatrização pode não ser a mesma em ratos uma vez que estes não possuem grande quantidade de fibras elásticas. Este dado não influenciou em nada os resultados deste estudo, pois o objetivo foi estudar as lesões imediatas causadas pelo laser e não os processos de cicatrização (URMACHER, C.,1995).

5.8.2 Dos aspectos histopatológicos da pele lesada com laser Erbium, duas passadas

Quando da observação da pele lesada pelo laser Erbium com duas passadas pode-se notar que havia intervalos de pele lesada intercalados com intervalos de pele não lesada. Estes intervalos, tanto de pele lesada quanto de pele não lesada são relativamente irregulares em frequência e extensão conferindo um aspecto lesional heterogêneo com duas passadas (vide tabelas 2 e 3). Nos locais onde havia lesão observou-se dois padrões distintos de lesão. Nas porções mais centrais da área lesionada havia ausência completa da epiderme e das camadas mais superficiais do colágeno dérmico. Isto caracteriza o dano de ablação causado pela vaporização dos tecidos devido ao seu aquecimento causado pela afinidade destes pela água. Havia também homogenização do colágeno da derme superficial e perda da sua afinidade tintorial, o que caracteriza o dano térmico residual. Nas porções periféricas da área lesionada (área de transição entre pele lesada e não lesada) observou-se que o dano de ablação não é tão importante, isto é, a ablação pode se restringir somente à epiderme ou mesmo às camadas mais superiores desta (córnea, granulosa e intermediária) deixando intactas algumas células epiteliais da camada basal. O dano térmico residual também é um pouco menos importante nestas áreas periféricas (vide fotomicrografias 7, 8 e 9). Isto sugere um padrão lesional semelhante a uma curva em “Ü” com áreas centrais apresentando mais profundidade dano de ablação que as áreas periféricas. Estas observações vêm de encontro às de PARVOTI, F. (1987), para o laser CO2 com

sobreposição de 30%. O laser CO₂ teria um forma geométrica de pulso que faria uma lesão curva semelhante à encontrada em nosso estudo com o laser Erbium, tornando a sobreposição de cerca de 30% necessária para a homogenização das lesões. Entretanto, as informações do fabricante do laser Erbium indicam que o formato geométrico do seu pulso faria uma lesão mais homogênea, na forma de *plateau*, e que teoricamente a sobreposição seria desnecessária. Porém não foi o que ocorreu neste estudo com sobreposição de 0% uma vez que a lesão não é homogênea, isto é, não é em forma de *plateau*, mas sim em forma de “U”, sugerindo a necessidade de sobreposição ou de mais passadas para a sua homogeneização.

Uma padrão lesional muito interessante foi encontrado nas áreas contendo pêlos. Estas áreas apresentam menor profundidade de dano de ablação e térmico residual, sugerindo que o pêlo pode servir como estrutura protetora. Este aspecto foi encontrado tanto com duas como com quatro passadas.

Não havia reação inflamatória do tipo celular nas áreas de lesão (tanto em duas como em quatro passadas), isto é, não havia presença de neutrófilos ou outras células inflamatórias. Porém havia sinais iniciais de atividade inflamatória como edema e congestão vascular. Isto porque a retirada das amostras e o sacrifício dos animais foi feito até 3 horas após a aplicação do laser permitindo reação inflamatória inicial. Vale lembrar que o edema pode prejudicar as medidas de espessura da pele lesada.

5.8.3 Dos aspectos histopatológicos da pele lesada com laser Erbium, quatro passadas

Quando se observa a pele lesada pelo laser Erbium com quatro passadas pode-se notar que havia intervalos de pele lesada intercalados com intervalos de pele não lesada. Os intervalos de pele não lesada são bem menos freqüentes e extensos com quatro passadas e, conseqüentemente, as extensões de pele lesada são bem maiores,

conferindo-lhe um padrão lesional bem mais homogêneo que o observado com duas passadas (vide tabelas 4 e 5). Nos locais onde havia lesão observou-se dois padrões distintos de lesão como o observado com duas passadas. Havia dano de ablação da epiderme e derme superficial e dano térmico residual de camadas superficiais do colágeno dérmico. O padrão lesional semelhante a uma curva em “U” visto com duas passadas não foi observado com quatro passadas. Na verdade o padrão lesional com quatro passadas foi semelhante a um *plateau*, como relatado pelos fabricantes, isto é, a periferia das lesões apresenta tanta ablação ou dano térmico como as porções centrais. Isto sugere que o efeito do número maior de passadas pode estar de certa maneira substituindo o efeito da sobreposição de 30% recomendada para o laser CO2. Sendo assim, talvez não seja a forma do pulso que influencie do padrão lesional observado, como sugerem os fabricantes do laser Erbium e sim a sobreposição ou o número de passadas. Além disso a informação dada pelos fabricantes de que o laser Erbium não necessitaria de sobreposição não foi confirmada por este estudo como mostram os nossos resultados, a não ser que aumentássemos o número de passadas.^{9,10}

O dano térmico residual foi muito semelhante com duas e quatro passadas, porém o dano de ablação foi mais profundo com quatro passadas quando observamos as estruturas anexiais que foram atingidas com quatro passadas. Isto é, tomando o folículo piloso como referência, com duas passadas o dano de ablação só chegou até o acrotríquio e com quatro passadas chegou até o infundíbulo. Infelizmente esta medida de profundidade não pode ser confirmada por métodos morfométricos pois o edema causado por atividade inflamatória inicial, que foi bem maior com quatro do que com duas passadas, aumentou a espessura da pele lesada, compensando o dano de ablação. Isto será melhor discutido no próximo item deste capítulo.

O dano térmico residual foi semelhante ao encontrado com duas passadas.

5.9 DOS RESULTADOS MORFOMÉTRICOS E RESULTADOS ESTATÍSTICOS

5.9.1 da extensão das áreas lesadas e não lesadas pelo laser Erbium

Nenhum estudo acerca da densidade da sobreposição dos *spots* do laser de Er:YAG foi encontrado na literatura pesquisada. Com o laser de CO₂ se utiliza sobreposição de 30% em função do perfil geométrico do pulso, que por ser mais quente em seu ponto médio e mais frio em sua periferia, tem a forma de um sino ou curva de Gauss. Por isto é utilizado 30% de *overlap* em aplicações com o sistema de laser de dióxido de carbono para o *resurfacing* (PARVOTI, F., 1987).

WEINSTEIN, C. (1998), estudando 141 pacientes, usando o laser de Er:YAG. com *scanner*, utilizou 30 % de sobreposição dos *spots* e obteve ablação homogênea e precisa da epiderme e derme superficial. Mas não fez nenhuma comparação com outras variedades de *overlap*.

Segundo informações provenientes da fábrica o perfil geométrico do pulso do laser de Er:YAG difere do CO₂. Sua energia provoca ablação uniforme no fundo da lesão em forma de um *plateau*. De modo que seria teoricamente desnecessária a sobreposição dos *spots* para se obter uma ablação uniforme no que se refere à extensão.

Entretanto não foi o que se observou neste experimento. Havia muita irregularidade na extensão das lesões surgindo diversos intervalos de pele com pouca ou nenhuma lesão como já explicado acima.

A extensão da lesão média para 2 passadas foi de 358,40 micra e para 4 passadas 807,02 micra, seguindo uma coerência esperada pois quanto maior o número de passadas, maiores são as possibilidades de se obter uma maior extensão de área com ablação e menor quantidade de intervalos de pele não lesada que mediram para 2 passadas 323,31 micra e para 4 passadas 212,51 micra como média.

5.9.2 Da profundidade do dano de ablação.

A medida da profundidade das lesões não retrata a realidade, tendo em vista que a colheita do material foi feita 3 horas após a aplicação do laser. Após 3 horas o edema encontrado era intenso principalmente nas áreas em que foram aplicadas 4 passadas. Como a profundidade de ablação foi calculada subtraindo-se a espessura da pele nas áreas lesadas da espessura da pele controle, o edema nas áreas lesadas, principalmente com quatro passadas aumentou a sua espessura, compensando o dano de ablação causado pelo laser e tornando os resultados desta subtração muito pequenos e às vezes até negativo e impossibilitando o cálculo objetivo morfométrico do dano de ablação.

O resultado reflete este fato, encontrando-se uma profundidade de 935,56 micra para 2 passadas e 522,47 para 4 passadas como valores médios. Isto sugere que os valores encontrados para duas passadas (935,56) possam refletir valores próximos da realidade, uma vez que havia edema porém muito discreto. Já os valores encontrados para quatro passadas (522,47) provavelmente não refletem a realidade uma vez que a profundidade do dano de ablação foi maior para quatro passadas. Isto foi observado de forma indireta utilizando-se parâmetros histológicos de referência como já foi explicado acima.

Optou-se pelo debridamento cirúrgico entre uma série de disparos e outro, por entender-se que o tecido desidratado mesmo sendo pequeno e os resíduos celulares, pudessem prejudicar a absorção do laser. Por isto, a cada passada de laser, o procedimento era interrompido para que se pudesse fazer o debridamento com gaze úmida. A seguir a caneta do *scanner* era reposicionada novamente sobre a área alvo no dorso do animal e nova série de disparos era repetida. Esta movimentação da caneta do *scanner* por ser um ato de controle puramente manual, é passível de erro no que se refere a pequenas distorções no reposicionamento do feixe de laser. Haja vista

que cada *spot* tem 3 milímetros de diâmetro e se torna impossível repetir exatamente o mesmo posicionamento várias vezes. Este fato também pode se tornar prejudicial a uma avaliação precisa da profundidade da lesão.

5.9.3 Do dano térmico residual

O dano térmico tem muita importância no resultado clínico de um *resurfacing*. O resultado ideal na derme é que haja grande migração de fibroblastos e neoformação de fibras colágenas responsáveis por uma pele mais firme.

Sabe-se, no entanto, que o dano térmico provocado pelo laser de CO₂ em humanos é da ordem de 20-70 μm KAUFMANN, A.B.N., GERONEMUS, R.G., WALDORF, H.A.(1995) e WEINSTEIN, C. (1997), em contraste com o laser de ER:YAG em que estudos clínicos têm confirmado uma zona de dano térmico de 5-20 μm (HOHENLEUTNER, U. 1997 e KAUFMANN, R., HIBST, R. 1996). Lembrando que isto dependerá do número de pulsos, sobreposição e fluência.

Neste estudo mesmo sendo experimental e não podendo ser comparado a humanos, existe uma grande semelhança quanto à espessura da pele e os resultados encontrados são coerentes e teve como valor médio do dano térmico para 2 passadas de 20,90 μm e para 4 passadas de 24,07 μm . Apresentando pouco aumento da área de dano térmico mesmo dobrando o número de passadas.

5.10 DO USO DO LASER EM SERES HUMANOS

Não se encontrou na literatura pesquisada experimentos em ratos suficientes para que se pudesse fazer comparações. Isto se deve ao fato do aparelho ser novo. Em avaliações clínicas, encontraram-se os seguintes resultados para ablação e dano térmico:

HIBST, R. et al. (1991), encontrou ablação de 25-40 micra utilizando em pele de porco doméstico *in vitro* e *in vivo* a energia de 100 a 300 mJ, com variação de 0,5 a 5 Hz e número de pulsos acima de 200. HOHENLEUTNER, U. (1997), utilizou pele humana *in vitro* e *in vivo* (margem livre de ressecção de melanoma) e concluiu que o laser de Er:YAG causa de 10-40 micra de ablação com variações que dependerão dos parâmetros utilizados. KAUFMANN, R., et al., (1989) utilizaram *in vitro* pele humana e *in vitro* pele de porco. Os parâmetros utilizados foram de 1 Hz, 100 pulsos e 14 J/cm² e chegaram à conclusão de que houve ablação de 25- 40 micra e 5 micra de dano térmico. KAUFMANN, R., et al., (1994) concluíram 25-40 micra de ablação e 5 micra de dano térmico dependendo da fluência usada. WEINSTEIN, C. (1998), fez estudo *in vivo* em pele humana. Utilizou fluência que variou de 5 a 20 J/cm² com aumentos sucessivos a cada 5 J/cm² e estabeleceu parâmetros fixos de 20 Hz de frequência e 30 % de *overlap*. Com 15 J/cm² produziu injúria de toda a espessura da epiderme, penetrou na camada basal e causou um mínimo de 20 µm de ablação da camada papilar superficialmente. Uma estreita banda de necrose térmica de 10 a 15 micra estava presente. Com 20J/cm² conseguiu ablação completa da epiderme e derme papilar (40 µm) com necrose térmica de 5-15 µm. Conclui que o acúmulo de fluência lidera o aprofundamento do ablação sem contudo aumentar a necrose térmica.

PEREZ, M.I.; BANK., D.E., e SILVERS, D. (1998), fez seu experimento *in vivo* utilizando pele retro auricular de humanos. Os parâmetros utilizando foram de : energia de 0,8-1,0 Joules, *spot size* de 5 mm e fluência de 4-5 J/cm² . Observou que com duas passadas o ablação atingiu toda a epiderme até a camada basal com um mínimo de dano térmico. Com 3-4 passadas o ablação atingiu toda a espessura da epiderme com reação na camada papilar causando desarranjo dos fascículos de colágeno.Com 5-6 passadas teve ablação total da epiderme .

6 CONCLUSÕES

Aplicando-se o aparelho de laser de *Erbium:YAG* (DERMA 20 TM) na pele do dorso de ratos com 2 e 4 passadas com 20 watts, 1,7 joules, 12 Hz e com *spot* de 3mm de diâmetro utilizado com 0% de sobreposição, conclui-se que:

1. Não houve homogeneidade da ablação em extensão e na profundidade. Entretanto com 4 passadas a ablação foi mais homogênea do que em 2 passadas.
2. Não houve homogeneidade do dano térmico residual. Entretanto com 4 passadas houve maior regularidade do que em 2 passadas.
3. O uso de 0% de sobreposição dos “*spots*” não produz ablação completa.

ANEXOS

ANEXO 1 - RESULTADOS MORFOMÉTRICOS.

TABELA 1 - Valores de referência (em μm) da pele controle (C) em 4 cortes histológicos de cada animal experimental, sendo realizado 24 medidas em cada animal, 6 medidas por corte histológico. Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão são relatados.

Cortes	A1	A2	A3
1.1	952	1008	952
1.2	1120	1064	896
1.3	1176	952	1064
1.4	1120	952	1008
1.5	952	896	896
1.6	1232	1064	1120
2.1	896	1008	952
2.2	952	1064	952
2.3	1064	896	1008
2.4	1120	1008	1008
2.5	1064	1008	952
2.6	1176	1064	1064
3.1	896	1064	952
3.2	1176	1120	1008
3.3	1120	1008	1008
3.4	1176	1008	1064
3.5	1232	952	896
3.6	1064	1176	1064
4.1	896	1008	952
4.2	1120	952	1008
4.3	1176	896	1008
4.4	1120	896	1008
4.5	1008	952	840
4.6	1120	1176	1120
Mínimo	896	896	840
Média	1080,33	1008	991,67
Máximo	1232	1176	1120
Desvio Padrão	106,35	80,9	70,99

72 medidas

TABELA 2 - Extensão das áreas lesadas pelo laser Erbium (ext.les.), extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.), espessura da pele nas áreas lesadas (esp.les.) e do dano térmico residual (d.t.r.) no animal 1 (A1) após duas aplicações do laser Erbium (2P). Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão em μm .

Cortes	Ext.les	Ext.n-les.	Esp.les	d.t.r.
1.1	672	112	1008	28
1.2	504	56	952	14
1.3	280	504	840	14
1.4	336	112	1008	28
1.5	1624	504	840	28
1.6	616	616	1120	28
1.7	1344	-	1232	14
2.1	392	168	840	14
2.2	672	112	1008	42
2.3	672	112	952	14
2.4	280	504	952	14
2.5	336	56	896	28
2.6	1400	560	840	28
2.7	616	448	1120	28
2.8	1512	-	1176	14
3.1	336	224	840	28
3.2	672	112	1008	42
3.3	1064	392	896	14
3.4	392	56	896	14
3.5	1680	672	840	-
3.6	616	504	1064	28
3.7	1456	-	1176	42
4.1	224	224	896	14
4.2	224	112	1120	14
4.3	616	56	840	42
4.4	112	224	952	14
4.5	112	336	1008	14
4.6	280	56	1120	28
4.7	56	112	840	14
4.8	168	168	952	28
4.9	336	168	952	14
4.10	280	56	1008	28
4.11	1064	280	952	14
4.12	168	168	1232	42
4.13	1288	-	1176	42
Média	640	251,1	987,2	23,88
Mínimo	56	56	840	14
Máximo	1680	672	1232	42
Desvio Padrão	486,74	193,38	123,8	10,64

140 medidas

TABELA 3 - Extensão das áreas lesadas pelo laser Erbium (ext.les.), extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.), espessura da pele nas áreas lesadas (esp.les.) e do dano térmico residual (d.t.r.) no animal 2 (A2) após duas aplicações do laser Erbium (2P). Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão em μm .

Cortes	Ext.les	Ext.n-les.	Esp.les	d.t.r.
1.1	56	56	672	28
1.2	224	336	616	14
1.3	560	112	1008	28
1.4	672	56	952	42
1.5	392	224	1064	42
1.6	168	112	896	28
1.7	224	336	896	14
1.8	112	168	840	14
1.9	280	112	784	42
1.10	224	224	840	28
1.11	168	280	840	14
1.12	168	112	952	28
1.13	280	560	840	28
1.14	336	112	840	14
1.15	504	-	1064	28
2.1	336	224	728	28
2.2	728	56	840	14
2.3	1120	280	952	28
2.4	560	280	896	28
2.5	112	112	952	28
2.6	504	112	784	28
2.7	112	336	728	14
2.8	168	280	896	14
2.9	224	112	840	42
2.10	336	616	840	14
2.11	336	56	896	14
2.12	336	392	1064	14
2.13	168	-	1064	14
3.1	224	280	672	14
3.2	1064	56	1008	42
3.3	560	336	952	28
3.4	224	56	1008	28
3.5	280	224	952	14
3.6	112	112	1064	28
3.7	112	168	952	14
3.8	392	112	840	28
3.9	280	168	896	28
3.10	168	336	840	28
3.11	168	112	952	14
3.12	336	112	896	28
3.13	840	112	1008	28
3.14	280	168	1064	14
3.15	280	-	1120	28
4.1	280	392	784	14
4.2	1400	56	952	42
4.3	560	112	1008	14
4.4	336	56	1064	28
4.5	448	112	1064	14
4.6	112	392	1008	14

TABELA 3 - Extensão das áreas lesadas pelo laser Erbium (ext.les.), extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.), espessura da pele nas áreas lesadas (esp.les.) e do dano térmico residual (d.t.r.) no animal 2 (A2) após duas aplicações do laser Erbium (2P). Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão em μm .

(continuação)

4.7	336	112	1064	28
4.8	784	112	1120	14
4.9	112	168	1120	14
4.10	952	112	952	14
4.11	280	112	952	14
4.12	168	112	1008	14
4.13	280	168	1288	14
4.14	168	56	1232	14
4.15	336	-	1400	28
Média	366,9	186,67	945,24	22,69
Mínimo	56	56	616	14
Máximo	1400	616	1400	42
Desvio Padrão	277,37	128,71	145,76	9,39

232 medidas

TABELA 4 - Extensão das áreas lesadas pelo laser Erbium (ext.les.), extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.), espessura da pele nas áreas lesadas (esp.les.) e do dano térmico residual (d.t.r.) no animal 3 (A3) após duas aplicações do laser Erbium (2P). Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão em μm .

Cortes	Ext.les	Ext.n-les.	Esp.les	d.t.r.
1.1	392	224	672	14
1.2	56	2240	728	14
1.3	112	560	1064	14
1.4	56	56	1288	14
1.5	56	448	1232	14
1.6	112	1008	1344	14
1.7	112	1120	1456	14
1.8	56	336	1232	14
1.9	56	952	1232	14
1.10	112	112	1288	14
1.11	112	168	1288	14
1.12	56	168	1232	14
1.13	280	280	1232	14
1.14	56	112	1232	14
1.15	392	-	1232	14
2.1	112	616	1064	14
2.2	56	392	1232	14
2.3	112	784	1400	14
2.4	56	1232	1344	14
2.5	56	1232	1288	14
2.6	112	168	1400	-
2.7	56	168	1232	14
2.8	56	168	1288	14
2.9	112	168	1176	14
2.10	224	336	1232	14
2.11	56	112	1120	14
2.12	224	-	1120	14
3.1	56	504	1288	14
3.2	168	504	1064	28
3.3	112	392	1344	14
3.4	112	952	1400	14
3.5	56	1176	1512	14
3.6	112	1288	1288	28
3.7	112	112	1344	28
3.8	112	168	1288	14
3.9	560	392	1232	28
3.10	280	-	1288	14
4.1	56	448	1288	14
4.2	56	56	1120	14
4.3	224	504	1120	28
4.4	112	616	1344	14
4.5	112	840	1400	14
4.6	112	1232	1456	14
4.7	112	1176	1344	28
4.8	168	112	1344	28
4.9	112	168	1400	14
4.10	504	-	1232	14
Média	138,21	553,49	1249,87	16,13
Mínimo	56	56	672	14
Máximo	560	2240	1512	28
Desvio Padrão	117,26	477,4	156,71	5,08

188 medidas

TABELA 5 - Extensão das áreas lesadas pelo laser Erbium (ext.les.), extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.), espessura da pele nas áreas lesadas (esp.les.) e do dano térmico residual (d.t.r.) no animal 1 (A1) após quatro aplicações do laser Erbium (4P). Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão em μm .

Cortes	Ext.les	Ext.n-les.	Esp.les	d.t.r.
1.1	336	56	1232	28
1.2	392	168	1400	14
1.3	840	112	1288	14
1.4	112	112	1400	14
1.5	280	168	1344	42
1.6	336	112	1288	28
1.7	2464	56	952	42
1.8	1176	280	1064	28
1.9	392	112	1232	28
1.10	56	-	1176	14
2.1	728	168	728	14
2.2	840	280	1344	14
2.3	280	112	1288	28
2.4	112	280	1400	14
2.5	1960	224	952	28
2.6	560	56	1008	14
2.7	1344	336	1120	14
2.8	392	224	1176	28
2.9	224	-	1176	14
3.1	840	168	1176	14
3.2	784	336	1288	42
3.3	336	112	1456	14
3.4	112	224	1344	14
3.5	1848	112	952	42
3.6	2016	336	896	14
3.7	392	280	952	28
3.8	336	-	1008	14
4.1	840	168	1344	14
4.2	784	336	1344	42
4.3	280	336	1344	14
4.4	168	336	1288	14
4.5	2072	168	952	42
4.6	448	56	1008	14
4.7	1288	280	1008	14
4.8	336	168	1176	14
4.9	56	-	1288	14
Média	715,56	196	1177,56	21,78
Mínimo	56	56	728	14
Máximo	2464	336	1456	42
Desvio Padrão	648,81	96,47	180,34	10,82

144 medidas

TABELA 6 - Extensão das áreas lesadas pelo laser Erbium (ext.les.), extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.), espessura da pele nas áreas lesadas (esp.les.) e do dano térmico residual (d.t.r.) no animal 2 (A2) após quatro aplicações do laser Erbium (4P). Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão em μm .

Cortes	Ext.les	Ext.n-les.	Esp.les	d.t.r.
1.1	168	504	896	14
1.2	336	1792	784	42
1.3	6048	280	840	42
1.4	56	112	1120	14
1.5	224	-	1008	14
2.1	336	840	896	14
2.2	224	112	896	42
2.3	56	112	952	28
2.4	4592	112	784	42
2.5	168	112	1176	14
2.6	336	-	1064	28
3.1	224	112	896	42
3.2	56	112	896	14
3.3	4816	168	896	28
3.4	168	112	1064	14
3.5	336	-	1008	28
4.1	280	1792	784	28
4.2	224	112	952	14
4.3	4704	168	728	28
4.4	224	112	1064	28
4.5	336	-	1008	14
Média	1138,67	392	938,67	25,33
Mínimo	56	112	728	14
Máximo	6048	1792	1176	42
Desvio Padrão	1958,91	560,7	119,98	11,39

TABELA 7 - Extensão das áreas lesadas pelo laser Erbium (ext.les.), extensão dos intervalos de pele não lesada (ext.n-les.), espessura da pele nas áreas lesadas (esp.les.) e do dano térmico residual (d.t.r.) no animal 3 (A3) após quatro aplicações do laser Erbium (4P). Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão em μm .

Cortes	Ext.les	Ext.n-les.	Esp.les	d.t.r.
1.1	280	112	952	14
1.2	168	112	1064	28
1.3	168	112	1288	14
1.4	224	280	1344	14
1.5	616	56	1288	14
1.6	4536	56	1120	56
1.7	224	112	1064	14
1.8	336	-	1008	14
2.1	280	56	896	28
2.2	224	112	1176	14
2.3	168	56	1232	14
2.4	168	224	1232	28
2.5	504	112	1344	14
2.6	336	224	1344	14
2.7	672	112	1400	14
2.8	336	224	1456	42
2.9	896	168	1120	28
2.10	840	112	1008	56
2.11	560	-	1064	14
3.1	280	56	952	28
3.2	224	112	1120	28
3.3	112	112	-	-
3.4	168	56	1232	14
3.5	224	56	1400	28
3.6	3360	168	1232	42
3.7	504	112	1064	42
3.8	560	-	1008	42
4.1	392	112	896	28
4.2	224	112	1064	14
4.3	168	224	1400	14
4.4	840	168	1344	42
4.5	4032	112	1008	56
4.6	504	-	1008	14
Média	700,85	125,52	1160,25	25,81
Mínimo	112	56	896	14
Máximo	4536	280	1456	56
Desvio Padrão	1083,36	61,08	164,8	14,27

132 medidas

ANEXO 2 RESULTADOS GERAIS

TABELA 8 - RESULTADOS GERAIS

ANIMAL	APLICAÇÕES	C. HISTOL	EXT. LES	EXT.N-LES.	ESP. CONT.	ESP. LES.	D. ABLAÇ	D.T.R
1	2	1	672	112	19,29	1008	408,24	28
1	2	1	504	56	19,29	952	576,24	14
1	2	1	280	504	19,29	840	800,24	14
1	2	1	336	112	19,29	1008	744,24	28
1	2	1	1624	504	19,29	840	-543,76	28
1	2	1	616	616	19,29	1120	464,24	28
1	2	1	1344		19,29	1232	-263,76	14
1	2	2	392	168	19,29	840	688,24	14
1	2	2	672	112	19,29	1008	408,24	42
1	2	2	672	112	19,29	952	408,24	14
1	2	2	280	504	19,29	952	800,24	14
1	2	2	336	56	19,29	896	744,24	28
1	2	2	1400	560	19,29	840	-319,76	28
1	2	2	616	448	19,29	1120	464,24	28
1	2	2	1512		19,29	1176	-431,76	14
1	2	3	336	224	19,29	840	744,24	28
1	2	3	672	112	19,29	1008	408,24	42
1	2	3	1064	392	19,29	896	16,24	14
1	2	3	392	56	19,29	896	688,24	14
1	2	3	1680	672	19,29	840	-599,76	
1	2	3	616	504	19,29	1064	464,24	28
1	2	3	1456		19,29	1176	-375,76	42
1	2	4	224	224	19,29	896	856,24	14
1	2	4	224	112	19,29	1120	856,24	14
1	2	4	616	56	19,29	840	464,24	42
1	2	4	112	224	19,29	952	968,24	14
1	2	4	112	336	19,29	1008	968,24	14
1	2	4	280	56	19,29	1120	800,24	28
1	2	4	56	112	19,29	840	1024,24	14
1	2	4	168	168	19,29	952	912,24	28
1	2	4	336	168	19,29	952	744,24	14
1	2	4	280	56	19,29	1008	800,24	28
1	2	4	1064	280	19,29	952	16,24	14
1	2	4	168	168	19,29	1232	912,24	42
1	2	4	1288		19,29	1176	-207,76	42
2	2	1	56	56	18	672	952	28
2	2	1	224	336	18	616	784	14
2	2	1	560	112	18	1008	448	28
2	2	1	672	56	18	952	336	42
2	2	1	392	224	18	1064	616	42
2	2	1	168	112	18	896	840	28
2	2	1	224	336	18	896	784	14
2	2	1	112	168	18	840	896	14
2	2	1	280	112	18	784	728	42
2	2	1	224	224	18	840	784	28
2	2	1	168	280	18	840	840	14
2	2	1	168	112	18	952	840	28
2	2	1	280	560	18	840	728	28
2	2	1	336	112	18	840	672	14

TABELA 8 - RESULTADOS GERAIS

(continuação)

2	2	1	504		18	1064	504	28
2	2	2	336	224	18	728	672	28
2	2	2	728	56	18	840	280	14
2	2	2	1120	280	18	952	-112	28
2	2	2	560	280	18	896	448	28
2	2	2	112	112	18	952	896	28
2	2	2	504	112	18	784	504	28
2	2	2	112	336	18	728	896	14
2	2	2	168	280	18	896	840	14
2	2	2	224	112	18	840	784	42
2	2	2	336	616	18	840	672	14
2	2	2	336	56	18	896	672	14
2	2	2	336	392	18	1064	672	14
2	2	2	168		18	1064	840	14
2	2	3	224	280	18	672	784	14
2	2	3	1064	56	18	1008	-56	42
2	2	3	560	336	18	952	448	28
2	2	3	224	56	18	1008	784	28
2	2	3	280	224	18	952	728	14
2	2	3	112	112	18	1064	896	28
2	2	3	112	168	18	952	896	14
2	2	3	392	112	18	840	616	28
2	2	3	280	168	18	896	728	28
2	2	3	168	336	18	840	840	28
2	2	3	168	112	18	952	840	14
2	2	3	336	112	18	896	672	28
2	2	3	840	112	18	1008	168	28
2	2	3	280	168	18	1064	728	14
2	2	3	280		18	1120	728	28
2	2	4	280	392	18	784	728	14
2	2	4	1400	56	18	952	-392	42
2	2	4	560	112	18	728	448	14
2	2	4	336	56	18	1064	672	28
2	2	4	448	112	18	1064	560	14
2	2	4	112	392	18	1008	896	14
2	2	4	336	112	18	1064	672	28
2	2	4	784	112	18	1120	224	14
2	2	4	112	168	18	1120	896	14
2	2	4	952	112	18	952	56	14
2	2	4	280	112	18	952	728	14
2	2	4	168	112	18	1008	840	14
2	2	4	280	168	18	1288	728	28
2	2	4	168	56	18	1232	840	14
2	2	4	336		18	1400	672	28
3	2	1	392	224	32,25	672	1414	14
3	2	1	56	2240	32,25	728	1750	14
3	2	1	112	560	32,25	1064	1694	14
3	2	1	56	56	32,25	1288	1750	14
3	2	1	56	448	32,25	1232	1750	14
3	2	1	112	1008	32,25	1344	1694	14
3	2	1	112	1120	32,25	1456	1694	14
3	2	1	56	336	32,25	1232	1750	14
3	2	1	56	952	32,25	1232	1750	14

TABELA 8 - RESULTADOS GERAIS

(continuação)

3	2	1	112	112	32,25	1288	1694	14
3	2	1	112	168	32,25	1288	1694	14
3	2	1	56	168	32,25	1232	1750	14
3	2	1	280	280	32,25	1232	1526	14
3	2	1	56	112	32,25	1232	1750	14
3	2	1	392		32,25	1232	1414	
3	2	2	112	616	32,25	1064	1694	14
3	2	2	56	392	32,25	1232	1750	14
3	2	2	112	784	32,25	1400	1694	14
3	2	2	56	1232	32,25	1344	1750	14
3	2	2	56	1232	32,25	1288	1750	14
3	2	2	112	168	32,25	1400	1694	14
3	2	2	56	168	32,25	1232	1750	14
3	2	2	56	168	32,25	1288	1750	14
3	2	2	112	168	32,25	1176	1694	14
3	2	2	224	336	32,25	1232	1582	14
3	2	2	56	112	32,25	1120	1750	14
3	2	2	224		32,25	1120	1582	14
3	2	3	56	504	32,25	1288	1750	14
3	2	3	168	504	32,25	1064	1638	28
3	2	3	112	392	32,25	1344	1694	14
3	2	3	112	952	32,25	1400	1694	14
3	2	3	56	1176	32,25	1512	1750	14
3	2	3	112	1288	32,25	1288	1694	28
3	2	3	112	112	32,25	1344	1694	28
3	2	3	112	168	32,25	1288	1694	14
3	2	3	560	392	32,25	1232	1246	28
3	2	3	280		32,25	1288	1526	14
3	2	4	56	168	32,25	1288	1750	14
3	2	4	56	56	32,25	1120	1750	14
3	2	4	224	504	32,25	1120	1582	28
3	2	4	112	616	32,25	1344	1694	14
3	2	4	112	840	32,25	1400	1694	14
3	2	4	112	1232	32,25	1456	1694	14
3	2	4	112	1176	32,25	1344	1694	28
3	2	4	168	112	32,25	1344	1638	28
3	2	4	112	168	32,25	1400	1694	14
3	2	4	504		32,25	1232	1302	14
1	4	1	336	56	19,29	1232	744,24	28
1	4	1	392	168	19,29	1400	688,24	14
1	4	1	840	112	19,29	1288	240,24	14
1	4	1	112	112	19,29	1400	968,24	14
1	4	1	280	168	19,29	1344	800,24	42
1	4	1	336	112	19,29	1288	744,24	28
1	4	1	2464	56	19,29	952	-1383,76	42
1	4	1	1176	280	19,29	1064	-95,76	28
1	4	1	392	112	19,29	1232	688,24	28
1	4	1	56		19,29	1176	1024,24	14
1	4	2	728	168	19,29	728	352,24	14
1	4	2	840	280	19,29	1344	240,24	14
1	4	2	280	112	19,29	1288	800,24	28
1	4	2	112	280	19,29	1400	968,24	14
1	4	2	1960	224	19,29	952	-879,76	28

TABELA 8 - RESULTADOS GERAIS

(continuação)

1	4	2	560	56	19,29	1008	520,24	14
1	4	2	1344	336	19,29	1120	-263,76	14
1	4	2	392	224	19,29	1176	688,24	28
1	4	2	224		19,29	1232	856,24	14
1	4	3	840	168	19,29	1176	240,24	14
1	4	3	784	336	19,29	1288	296,24	42
1	4	3	336	112	19,29	1456	744,24	14
1	4	3	112	224	19,29	1344	968,24	14
1	4	3	1848	112	19,29	952	-767,76	42
1	4	3	2016	336	19,29	896	-935,76	14
1	4	3	392	280	19,29	952	688,24	28
1	4	3	336		19,29	1008	744,24	14
1	4	4	840	168	19,29	1344	240,24	14
1	4	4	784	336	19,29	1344	296,24	42
1	4	4	280	336	19,29	1344	800,24	14
1	4	4	168	336	19,29	1288	912,24	14
1	4	4	2072	168	19,29	952	-991,76	42
1	4	4	448	56	19,29	1008	632,24	14
1	4	4	1288	280	19,29	1008	-207,76	14
1	4	4	336	168	19,29	1176	744,24	14
1	4	4	56		19,29	1288	1024,24	14
2	4	1	168	504	18	896	840	14
2	4	1	336	1792	18	784	672	42
2	4	1	6048	280	18	840	-5040	42
2	4	1	56	112	18	1120	952	14
2	4	1	224		18	1008	784	14
2	4	2	168	840	18	896	840	14
2	4	2	224	112	18	896	784	42
2	4	2	56	112	18	952	952	28
2	4	2	4592	112	18	784	-3584	42
2	4	2	168	112	18	1176	840	14
2	4	2	336		18	1064	672	28
2	4	3	224	112	18	896	784	42
2	4	3	56	112	18	896	952	14
2	4	3	4816	168	18	896	-3808	28
2	4	3	168	112	18	1064	840	14
2	4	3	336		18	1008	672	28
2	4	4	280	1792	18	784	728	28
2	4	4	224	112	18	952	784	14
2	4	4	4704	168	18	728	-3696	28
2	4	4	224	112	18	1624	784	28
2	4	4	336		18	1568	672	14
3	4	1	280	112	32,25	952	1526	14
3	4	1	168	112	32,25	1064	1638	28
3	4	1	168	112	32,25	1288	1638	14
3	4	1	224	280	32,25	1344	1582	14
3	4	1	616	56	32,25	1288	1190	14
3	4	1	4536	56	32,25	1120	-2730	56
3	4	1	224	112	32,25	1064	1582	14
3	4	1	336		32,25	1008	1470	14
3	4	2	280	56	32,25	896	1526	28
3	4	2	224	112	32,25	1176	1582	14
3	4	2	168	56	32,25	1232	1638	14

TABELA 8 - RESULTADOS GERAIS

(continuação)

3	4	2	168	224	32,25	1232	1638	28
3	4	2	504	112	32,25	1344	1302	14
3	4	2	336	224	32,25	1344	1470	14
3	4	2	672	112	32,25	1400	1134	14
3	4	2	336	224	32,25	1456	1470	42
3	4	2	896	168	32,25	1120	910	28
3	4	2	840	112	32,25	1008	966	56
3	4	2	560		32,25	1064	1246	14
3	4	3	280	56	32,25	1512	1526	28
3	4	3	224	112	32,25	1120	1582	28
3	4	3	112	112	32,25		1694	
3	4	3	168	56	32,25	1232	1638	14
3	4	3	224	56	32,25	1400	1582	28
3	4	3	3360	168	32,25	1232	-1554	42
3	4	3	504	112	32,25	1064	1302	42
3	4	3	560		32,25	1008	1246	42
3	4	4	392	112	32,25	896	1414	28
3	4	4	224	112	32,25	1064	1582	14
3	4	4	168	224	32,25	1400	1638	14
3	4	4	840	168	32,25	1344	966	42
3	4	4	4032	112	32,25	1008	-2226	56
3	4	4	504		32,25	1008	1302	14

 Σ total das medidas realizadas 920 (das lesões) Σ total medidas pelo controle 72 Σ total medidas realizadas 920 + 72 = 992

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACHAUER, B.M. Lasers in plastic surgery: current practice. **Plastic Recons. Surg.**, v.99, n.5, p.1442-1449, Apr.1997.
2. ADRIAN, R. M. The Erbium YAG laser : facts and fiction. **Dermatol. Surg.**,v.24, p.296, 1998.
3. APFELBERG, D.B. The ultrapulse carbond dioxide laser with computerpattern generator automatic scanner for facial cosmetic surgery and resurfacing. **Ann.Plast. Surg.**, v.36, p. 522-529, 1996.
4. BAGGISH, M. The effects of laser smoke on the lungs of rats. **J. Obstet Gynecol Am.**, v.156, p.1260, 1987.
5. BANCROFT, JD; STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques.** London: Churchill Livingstone,1982.
6. BASS, Lawrence S. Erbium YAG laser skin resurfacing : preliminary clinical evaluation. **An. Plastic Surg.**, v.40, n. 4, p. 328-334, Apr. 1998.
7. CABRAL, L.M. **Estudo comparativo dos aspectos morfológicos e morfométricos do processo de reparação da pele de ratos com película de celulose.** São Paulo , 1989. Dissertação (Mestrado em Ortopedia e Cirurgia Plástica Reparadora). Escola Paulista de Medicina. Universidade Federal de São Paulo.
8. CHAMON, Wallace. **Estudo clínico sobre ceratectomia fototerapêutica com Excimer laser de fluoreto de argônio (193 mm).** São Paulo, 1995. Tese (Doutorado em Medicina).Escola Paulista de Medicina.Universidade Federal de São Paulo.
9. CHERNOFF, W.G. ; SCHOENROCK, L.D. ; CRAMER, H. ; WAND, J. Cutaneous laser resurfacing. **Intern.J. Aesthetic Restorat. Surg.** , v.3, n. 1, p. 57-68, 1995.
10. CLINICAL highlights from Dermatology Meeting. **Med. Laser Rep.**, v. 9, n.3, p. 1-2, Mar. 1995.
11. COLLAGEN studies show thermal effects on skin. **Med. Laser Rep.**, v.9, n.7, p.4-5, Jul. 1995.

12. CUBEDDU, R.; BRANCATO, R.; SOZZI, C.; TARONI, P.; TRABUCCHI, G.; VALENTINI, G.; E VERDI, M. Study of photoablation of rabbit corneas by Er: YAG laser. **Lasers Surg. Med.**, v.19, p.32-39, 1996.
13. DAVID, L.M.; LASK, G.P.; GLASSBERG, E. Co2 laser abrasion for Cosmetic and therapeutic Treatment of facial actinic Damage. **Cutis.**, 43: 583-7, 1989.
14. DERMATM20 ER:YAG: a technological leap in skin rejuvenation. **DermaTM20 Er: YAG; aplication notes**, v.4, n.2, p.1-4, 1997.
15. DERMATM20 ER:YAG superior technology. . **DermaTM20 Er: YAG; aplication notes**, v.4, n.1, p.1-4, 1997.
16. DERMATOLOGY dominates at ASLMS. **Med. Laser Rep.**, v.9, n.4, p.1-2, Apr. 1995.
17. DRNOVĚK-OLUP, B.; VEDLIN, B. Use of Er:YAG laser for bening skin disorders. **Lasers Surg. Med.**, v.21, p.13-19, 1997.
18. ENTHUSIASM mounts for skin-resurfacing procedure. **Med. Laser Rep.**, v.9, n.4, p.1, Apr. 1995.
19. FIELD, L.M. Laser resurfacing hysteria : the media, the marketers, the companies and us. **Dermatol. Surg.**, v.24, p.684-686, 1998.
20. FITZPATRICK, R.E.; GOLDMAN, M.P.; SATURN, N.M.; TOPE, W.D. Pulsed carbon dioxide laser resurfacing of photo-aged facial skin. **Arch. Dermatol.**, 132:395-402. 1996.
21. FREIROG, L.; CHAPMAN, G.; SIELCZAK, M. Laser smoke effect on the bronchial systems. **Lasers Surg Med**, v.7, p 283-288, 1987..
22. FRIEDMAN, N.R. et al. Safety parameters for avoiding ocular damage from the reflected carbon dioxide (10.6MM) laser beam. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 17, p 815-818, 1987.
23. GARDNER, J.M. Papillomavirus in the vapor of carbon dioxide laser treated verrucar. **JAMA**, v.259, p.8, 1988.
24. GOLDEMANN, P.M. Thecniques for Erbium:YAG laser skin resurfacing: Initial pearls from the first 100 pacients. **Dermatol. Surg.**, v.23, n.12, p.1219-1221,1997.

25. GOLDMANN, P M. Techniques for erbium: Yag laser skin resurfacing: initial pearls from the first 100 patients. **Dermatol.Surg.**, v. 23, p.1219-1225,1997.
26. GOODMAN, G.J. The limitations of skin resurfacing techniques : the necessity to combine procedures. **Dermatol. Surg.**, v.24, p.687-688, 1998.
27. GORDON, J.P.; ZIEGLER,H.J.; TOWNES, G. HRUZA, G.H. The master: New type of amplifier, frequency standard and spectrometer. **Physiol Rev.**, 99: 1264-1274, 1955
28. HIBST, R. ; KAUFMANN, R. Effects of laser parameters on pulsed Er: YAG laser skin ablation. **Lasers Med. Sci.**, v.6, p.391-397, 1991.
29. HOHENLEUTNER, U.; HOHENLEUTNER, S.; BAUMLER, W.; LANDTHALER, H. Fast and effective skin ablation with an Er:YAG laser. **Lasers Surg. Med.**, v.20, p. 242-247, 1997.
30. HRUZA, G.H. Skin resurfacing with lasers. **J. Clin. Dermatol.**, v.3, n.4, p. 38-41, Jul./Aug. 1995.
31. HRUZA, G.J. ; DOVER, J.S. Laser skin resurfacing. **Arch. Dermatol.**,v.132, p.451-455, Apr. 1996.
32. HUGHES, P.S.H. Skin contraction following *Erbium:YAG* laser resurfacing. **Dermatol. Surg.**, v.24, p.108-111, 1998.
33. JAFFE, B.H.; WALSH, J.T. Water flux from partial-thickness skin wounds: comparative study of the effects of r:YAG and Ho:YAG lasers. **Laser Surg. Med.**, v.18, p.1-9, 1996.
34. KAUFMANN, R.; HARTMANN,A.; HIBST, R. Cutting and skin ablative properties of pulsed mid-infrared laser surgery. **J. Dermatol. Surg. Oncol.**, v.20, p. 112-118, 1994.
35. KAUFMANN, R.; HIBST, R. Pulsed Er: YAG and 308 nm UV –Excimer laser in vitro and in vivo study of skin ablative effect. **Laser Surg Med.**, v.9, p. 132-140, 1989.
36. KAUFMANN, R. ; HIBST, R. Pulsed Erbium: YAG laser ablation in cutaneous surgery. **Lasers Surg. Med.**, v. 19, p.324-330, 1996.

37. KAUVAR, A.N.; GERONIMUS, R.G.; WALDORF, H.A. Char- free tissue ablation: a comparative histopathological analysis of new carbon dioxide (Co2) laser systems (abstract). **Lasers Surg. Med.**, v.16, suppl. 7, p.50, 1995.
38. KHATRI, K. ; GOLDBERG, D.J.; MCDANIEL, D. **The Erbium YAG laser system.** s.l.; s.ed., 1996.
39. KYE, Y.C. Resurfacing of pitted facial scars with a pulsed Er : YAG laser. **Dermatol. Surg.**, v.23, p.880-883, 1997.
40. LASER surgery. In: **Future of laser dermatology.** s.n.t.. p.5-7.
41. LASK, David L.; GLASSBERG, E. CO2 laser abrasion for cosmetic and therapeutic treatment of facial actinic damage. **Cutis** , v.43, p.583-587, 1989.
42. MAIMON, T.H.; Stimulated optical radictron in ruby. **Nature.**, 187: 493-494, 1960.
43. MCDANIEL, D.H. ; ASH, K. ; LORD, J. ; NEWMANN, J. ; ZUKOWSKI, M. The Erbium : YAG laser : a review and preliminary report on resurfacing of the face, neck and hands. **Aesthetic Surg. J.**, v.17, n.3, p. 157-164, May /Jun. 1997.
44. MILLER, I.D. The Erbium laser gains a role in cosmetic surgery. **Biophotonics Intern.**, p.38-42, May/Jun. 1997.
45. MITTELMAN, H.; KEATING, W.; SMOLLER, B.R. Evaluation of acute human tissue injury using various lasers in facial surgery. **Facial Plast. Surg. Clin. North Am.**, 1: 173, 1993
46. NEMETH, A.J.; MILLER, I.; GLASS, L.F.; MESSINA, J.L.; REHNKE, R.D.. Erbium: YAG laser for acne scarring / resurfacing: a clinical and histologic study. **Lasers Surg. Med.**, 21 (suppl 9): 32. 1997.
47. PARTOVI, F. A model for thermal ablation of biological tissue using laser radiation. **Lasers Surg. Med.**, 7;141, 1987.
48. PEREZ, M.I.; BANK, D.E. ; SILVERS, D. Skin resurfacing of the face with the Erbium: YAG laser. **Dermatol. Surg.**, v.24, n.6, p. 653-659, 1998.
49. POLNIKORN, N. ; GOLDBERG, D.J. ; SUWANCHINDA, A. ; WENG NG, S. Erbium : YAG laser resurfacing in Asians. **Dermatol. Surg.**, v.24, p.1303-1307, 1998.

50. RESURFACING studies show Erbium laser advantages. **Med. Laser Rep.**, v.11, n.7, p. 1-2, Jul. 1997.
51. SHARPLAN PUBLISHERS. **Evaluating competitive Erbium :YAG laser systems.** s.n.t. (199-)
52. ROSS, V.E.; DOMANKEVITZ, Y.; SKROBAL, M. Effects of Co2 laser pulse duration in ablation and residual Thermal Damage: Implications for Skin resurfacing. **Lasers Surg. Med.**, 19: 123-6, 1996.
53. TEIKEMEIER, G. ; GOLDBERG, D.J. Skin resurfacing with the Erbium: YAG laser. **Dermatol. Surg.**, v.23, p.685-687, 1997.
54. TRELLES, M.A. ; DAVID, L.M. ; RIGAN, J. Penetration depth of ultrapulse carbon dioxide laser in human skin. **Dermatol. Surg.**, v.22, p. 863-865, 1996.
55. URMACHER, C. Normal skin. In: STERNBERG, S. S. **Histology for pathologists.** New York: Raven , 1995. p. 381-398.
56. VEDLIN, B. The Erbium laser's : bright future in medicine. **Biophotonics Intern.**, p.42-46, Jul./Aug. 1995.
57. VOGLER, K. ; REINDL, M. Improved Erbium laser parameters for new medical applications. **Biophotonics Intern.**, p.40-47, Nov./Dec. 1996.
58. WALDORF, H.A; KAUVAR, A.N.B.; GERONEMUS, R.G.; Skin resurfacing of fine to deep rhytides using a char-free carbon dioxide laser in 47 patients. **Dermatol Surg.**, 21: 940-6. 1995.
59. WALSH, J.T. ; FLOTTE, T.J. ; DEUTSCH, T.F. Er:YAG laser ablation of tissue : effect of pulse duration and tissue type on thermal damage. **Lasers Surg.Med.**, v.9, p.314-326, 1989.
60. WEINSTEIN, C. Computerized scanning Erbium: YAG laser for skin resurfacing. **Dermatol. Surg.**, v.24, p.83-89, 1998.
61. ZWEIG, A.D. ; FRENZ, M. ; ROMANO, V. ; WEBER, H.P. A comparative study of laser tissue interaction at 2.94 μm and 10.6 μm . **Applied Physics B**, v.47, p.259-265, 1988.